

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2002-503204

(P2002-503204A)

(43) 公表日 平成14年1月29日 (2002.1.29)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マ-ト* (参考)
C 0 7 C 317/12		C 0 7 C 317/12	
C 0 1 B 31/02	1 0 1	C 0 1 B 31/02	1 0 1 F
C 0 7 C 29/16		C 0 7 C 29/16	
29/32		29/32	
33/18		33/18	
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 134 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号	特願平9-531955	(71) 出願人	ハイビリオン カタリシス インターナショナル インコーポレイテッド
(86) (22) 出願日	平成9年3月5日 (1997.3.5)		アメリカ合衆国02138 マサチューセッツ州, ケンブリッジ, スミス プレース 38
(85) 翻訳文提出日	平成10年9月7日 (1998.9.7)	(72) 発明者	フィッシャー, アラン
(86) 国際出願番号	P C T / U S 9 7 / 0 3 5 5 3		アメリカ合衆国02139 マサチューセッツ州ケンブリッジ, アントリム ストリート 80
(87) 国際公開番号	W O 9 7 / 3 2 5 7 1	(72) 発明者	ホック, ロバート
(87) 国際公開日	平成9年9月12日 (1997.9.12)		アメリカ合衆国12439 ニューヨーク州ヘンソンビル, アール. アール. 1, ボックス 422
(31) 優先権主張番号	6 0 / 0 3 7, 2 3 8	(74) 代理人	弁理士 浅村 皓 (外3名)
(32) 優先日	平成8年3月6日 (1996.3.6)		最終頁に続く
(33) 優先権主張国	米国 (U S)		

(54) 【発明の名称】 官能化されたナノチューブ

(57) 【要約】

化学的置換によって又は官能性成分の吸着によって官能化されている、グラファイト性ナノチューブ〔管状フラーレン（通常、「バッキーチューブ」と称される）やフィブリルをも包含する〕。より詳しくは、本発明は、化学的成分によって均一又は不均一に置換されている又は特定の環状化合物が吸着されているグラファイト性ナノチューブに関し、また、かかる官能化されたナノチューブが互いに連結して構成する複合体構造に関する。更に、本発明はかかるナノチューブの表面上に官能基を導入する方法に関する。更に、本発明は官能化されたナノチューブの用途に関する。

【特許請求の範囲】

1. 式



〔式中、

炭素原子、 C_n は、5より大きい長さ／直径比と0.5 μ より小さい直径を有する実質的に円筒状のグラファイト性ナノチューブの表面炭素であり、

n は整数であり、 L は0.1 n より小さい数であり、 m は0.5 n より小さい数であり、

R の各々は同一であって、

SO_3H , $COOH$, NH_2 , OH , $R'CHOH$, CHO , CN , $COCl$, ハライド, $COSH$, SH , $COOR'$, SR' , SiR'_3 ,

$Si(OR')_y$, R'_{3-y} , $Si(O-SiR'_2)_zOR'$, R'' , Li , AlR'_2 , $Hg-X$, TlZ_2Mg-X , から選ばれ、

y は3以下の整数であり、

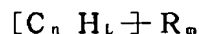
R' は水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、アラルキル、シクロアリール、またはポリ（アルキルエーテル）であり、

R'' はフルオロアルキル、フルオロアリール、フルオロシクロアルキルまたはフルオロアラルキルであり、

X はハライドであり、そして

Z はカルボキシレートまたはトリフルオロアセテートである〕の合成物。

2. 式



〔式中、

炭素原子、 C_n は、熱分解付着炭素を実質的に含有しない実質的に円筒状のグラファイト性フィブリルの表面炭素であり、前記フィブリル上のグラファイト層の突起はフィブリル直径少なくとも2つ分の距離延びており、

n は整数であり、 L は0.1 n より小さい数であり、 m は0.5 n より小さい

数であり、

Rの各々は同一であって、
 SO_3H , COOH , NH_2 , OH , $\text{R}'\text{CHOH}$, CHO , CN , COCl , ハ
ライド, COSH , SH , COOR' , SR' , SiR'_3 ,

$\text{Si} \leftarrow \text{OR}' \rightarrow_y \text{R}'_{3-y}$, $\text{Si} \leftarrow \text{O-SiR}'_2 \rightarrow \text{OR}'$, R'' , Li ,
 AlR'_2 , Hg-X , TlZ_2 および Mg-X ,
から選ばれ、

yは3以下の整数であり、

R'は水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、アラルキル、シクロアリ
ール、またはポリ(アルキルエーテル)であり、

R''はフルオロアルキル、フルオロアリール、フルオロシクロアルキルまたは
フルオロアラルキルであり、

Xはハライドであり、そして

Zはカルボキシレートまたはトリフルオロアセテートである]
の合成物。

3. 式



[式中、

炭素原子、 C_n は、フィッシュボーンフィブリルの表面原子であり、

nは整数であり、Lは0.1nより小さい数であり、mは0.5nより小さい
数であり、

Rの各々は同一であって、

SO_3H , COOH , NH_2 , OH , $\text{R}'\text{CHOH}$, CHO , CN , COCl , ハ
ライド, COSH , SH , COOR' , SR' , SiR'_3 ,

$\text{Si} \leftarrow \text{OR}' \rightarrow_y \text{R}'_{3-y}$, $\text{Si} \leftarrow \text{O-SiR}'_2 \rightarrow \text{OR}'$, R'' , Li ,
 AlR'_2 , Hg-X , TlZ_2 および Mg-X ,
から選ばれ、

yは3以下の整数であり、

R'は水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、アラルキル、シクロアリ

ール、またはポリ（アルキルエーテル）であり、

R" はフルオロアルキル、フルオロアリール、フルオロシクロアルキルまたはフルオロアラルキルであり、

Xはハライドであり、そして

Zはカルボキシレートまたはトリフルオロアセテートである]

の合成物。

4. 式



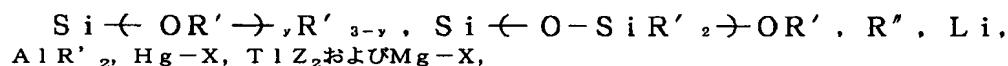
[式中、

炭素原子、C_nは、5より大きい長さ／直径比と0.5μより小さい直径を有する実質的に円筒状のグラファイト性ナノチューブの表面炭素であり、

nは整数であり、Lは0.1nより小さい数であり、mは0.5nより小さい数であり、

Rの各々は同一であってもよいし又は異なってもよく、

SO₃H, COOH, NH₂, OH, R' CHOH, CHO, CN, COCl, ハライド, COSH, SH, COOR', SR', SiR'₃,



から選ばれ、

yは3以下の整数であり、

R' は水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、アラルキル、シクロアリール、またはポリ（アルキルエーテル）から選ばれ、

R" はフルオロアルキル、フルオロアリール、フルオロシクロアルキルまたはフルオロアラルキルであり、

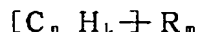
Xはハライドであり、

Zはカルボキシレートまたはトリフルオロアセテートであり、

そして、Rの各々が酸素含有基である場合にはCOOHが存在しないことを条件とする]

の合成物。

5. 式

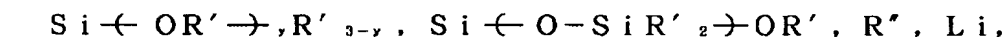


〔式中、

炭素原子、 C_n は、熱分解付着炭素を実質的に含有しない実質的に円筒状のグラファイト性フィブリルの表面炭素であり、前記フィブリル上のグラファイト層の突起はフィブリル直径少なくとも2つ分の距離延びており、

n は整数であり、 L は0. $1n$ より小さい数であり、 m は0. $5n$ より小さい数であり、

R の各々は同一であってもよいし又は異なってもよく、
 SO_3H , $COOH$, NH_2 , OH , $R'CHOH$, CHO , CN , $COCl$, ハ
 ライド, $COSH$, SH , $COOR'$, SR' , SiR'_3 ,



AlR'_2 , $Hg-X$, TlZ_2 および $Mg-X$,

から選ばれ、

y は3以下の整数であり、

R' は水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、アラルキル、シクロアリール、またはポリ(アルキルエーテル)であり、

R'' はフルオロアルキル、フルオロアリール、フルオロシクロアルキルまたはフルオロアラルキルであり、

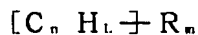
X はハライドであり、

Z はカルボキシレートまたはトリフルオロアセテートであり、

そして、 R の各々が酸素含有基である場合には $COOH$ が存在しないことを条件とする〕

の合成物。

6. 式



〔式中、

炭素原子、 C_n は、フィッシュボーンフィブリルの表面原子であり、

n は整数であり、 L は0. $1n$ より小さい数であり、 m は0. $5n$ より小さい

数であり、

Rの各々は同一であってもよいし又は異なってもよく、
 SO_3H , COOH , NH_2 , OH , $\text{R}'\text{CHOH}$, CHO , CN , COCl , ハ
 ライド, COSH , SH , COOR' , SR' , SiR'_3 ,

$\text{Si}(\text{OR}')_y$, R'_{3-y} , $\text{Si}(\text{O-SiR}'_2)_x\text{OR}'$, R'' , Li ,
 AlR'_2 , Hg-X , TiZ_2 および Mg-X ,
 から選ばれ、

yは3以下の整数であり、

R'は水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、アラルキル、シクロアリ
 ール、またはポリ(アルキルエーテル)であり、

R''はフルオロアルキル、フルオロアリール、フルオロシクロアルキルまたは
 フルオロアラルキルであり、

Xはハライドであり、

Zはカルボキシレートまたはトリフルオロアセテートであり、

そして、Rの各々が酸素含有基である場合には COOH が存在しないことを条
 件とする]
 の合成物。

7. 式

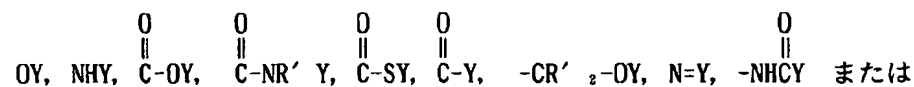


[式中、

炭素原子、 C_n は、5より大きい長さ/直径比と0.1 μ より小さい直径を有
 する実質的に円筒状のグラファイト性ナノチューブの表面炭素であり、

nは整数であり、Lは0.1 nより小さい数であり、mは0.5 nより小さい
 数であり、

Aの各々は



C=Y ,

から選ばれ、

Yは、タンパク質、ペプチド、アミノ酸、酵素、抗体、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、抗原、又は酵素基質、酵素阻害剤又は酵素基質の遷移状態類似体の適切な官能基であり、又は

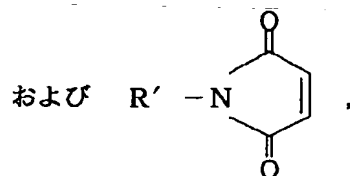
$R' - OH$, $R' - N(R')_2$, $R' - SH$, $R' - CHO$, $R' - CN$, $R' - X$,

$R' - N^+(R')_3 X^-$, $R' - SiR'_3$, $R' - Si(OR')_3$, $R' - Si(OR')_2R''$,

$R' - Si(OR')_2R''$, $R' - R''$, $R' - N-CO$,

$(C_2H_4O)_wH$, $(C_3H_6O)_wH$, $(C_2H_4O)_w-R'$,

$(C_3H_6O)_w-R'$, R' ,



から選ばれ、

yは3以下の整数であり、

R' は水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、アラルキルまたはシクロアリールであり、

R'' はフルオロアルキル、フルオロアリール、フルオロシクロアルキルまたはフルオロアラルキルであり、

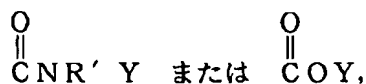
Xはハライドであり、

Zはガルボキシレートまたはトリフルオロアセテートであり、そして

wは1より大きくかつ200より小さい整数である]

の合成物。

8. Aが



であり、

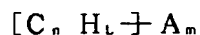
R' がHであり、そして

Yが、リジン、セリン、トレオニン、チロシン、アスパラギン酸およびグルタ

ミン酸からなる群から選ばれたアミノ酸である、

請求項7の合成物。

9. 式

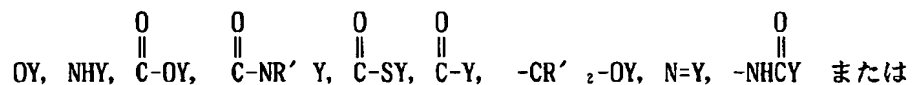


〔式中、

炭素原子、 C_n は、熱分解付着炭素を実質的に含有しない実質的に円筒状のグラファイト性フィブリルの表面炭素であり、前記フィブリル上のグラファイト層の突起はフィブリル直径少なくとも2つ分の距離延びており、

n は整数であり、 L は0、 $1n$ より小さい数であり、 m は0、 $5n$ より小さい数であり、

A の各々は

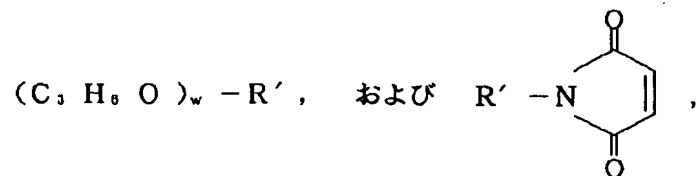
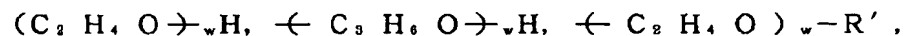
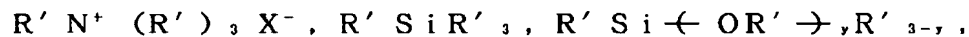


$C=Y$,

から選ばれ、

Y は、タンパク質、ペプチド、アミノ酸、酵素、抗体、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、抗原、又は酵素基質、酵素阻害剤又は酵素基質の遷移状態類似体の適切な官能基であり、又は

$R'-OH$, $R'-N(R')_2$, $R'SH$, $R'CHO$, $R'CN$, $R'X$,



から選ばれ、

yは3以下の整数であり、
R'は水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、アラルキルまたはシクロアリールであり、

R''はフルオロアルキル、フルオロアリール、フルオロシクロアルキルまたはフルオロアラルキルであり、

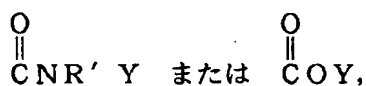
Xはハライドであり、

Zはカルボキシレートまたはトリフルオロアセテートであり、そして

wは1より大きくかつ200より小さい整数である]

の合成物。

10. Aが



であり、

R'がHであり、そして

Yが、リジン、セリン、トレオニン、チロシン、アスパラギン酸およびグルタミン酸からなる群から選ばれたアミノ酸である、

請求項9の合成物。

11. 式

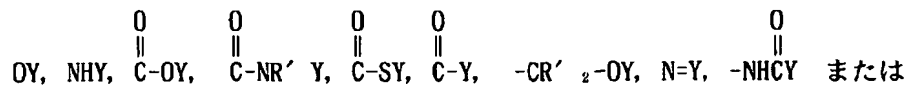


[式中、

炭素原子、C_n、はフィッシュボーンフィブリルの表面原子であり、

nは整数であり、Lは0.1nより小さい数であり、mは0.5nより小さい数であり、

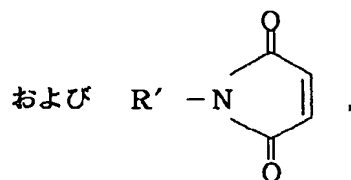
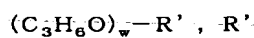
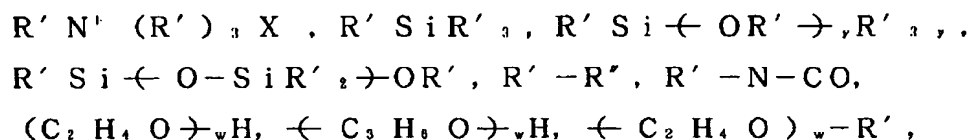
Aの各々は



C=Y,

から選ばれ、

Yは、タンパク質、ペプチド、アミノ酸、酵素、抗体、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、抗原、又は酵素基質、酵素阻害剤又は酵素基質の遷移状態類似体の適切な官能基であり、又は
 $R' - OH$, $R' - N(R')_2$, $R' - SH$, $R' - CHO$, $R' - CN$, $R' - X$,



から選ばれ、

yは3以下の整数であり、

R'は水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、アラルキルまたはシクロアリールであり、

R''はフルオロアルキル、フルオロアリール、フルオロシクロアルキルまたはフルオロアラルキルであり、

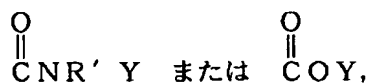
Xはハライドであり、

Zはカルボキシレートまたはトリフルoroアセテートであり、そして

wは1より大きくかつ200より小さい整数である]

の合成物。

12. Aが

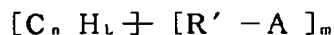


であり、

R'がHであり、そして

Yが、リジン、セリン、トレオニン、チロシン、アスパラギン酸およびグルタミン酸からなる群から選ばれたアミノ酸である、
請求項11の合成物。

13. 式



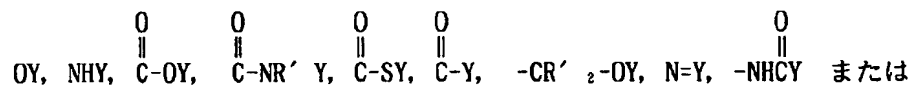
[式中、

炭素原子、 C_n は、5より大きい長さ/直径比と0.5 μ より小さい直径を有する実質的に円筒状のグラファイト性ナノチューブの表面炭素であり、

nは整数であり、Lは0.1 nより小さい数であり、mは0.5 nより小さい数であり、

R'の各々はアルキル、アリール、シクロアルキル、アラルキル、シクロアリール、またはポリ(アルキルエーテル)であり、

Aは

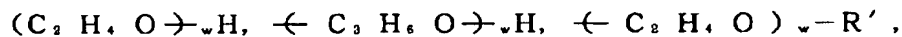
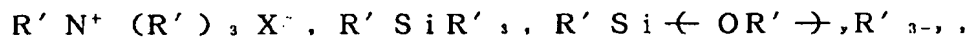


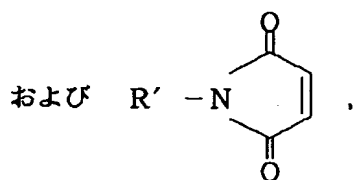
$C=Y$,

から選ばれ、

Yは、タンパク質、ペプチド、アミノ酸、酵素、抗体、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、抗原、又は酵素基質、酵素阻害剤又は酵素基質の遷移状態類似体の適切な官能基であり、又は

$R'-OH$, $R'-N(R')_2$, $R'-SH$, $R'-CHO$, $R'-CN$, $R'-X$,





から選ばれ、

y は 3 以下の整数であり、

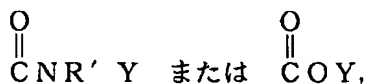
R' はフルオロアルキル、フルオロアリール、フルオロシクロアルキルまたはフルオロアラールキルであり、

X はハライドであり、

Z はカルボキシレートまたはトリフルオロアセテートであり、そして

w は 1 より大きくかつ 200 より小さい整数である] の合成物。

14. A が



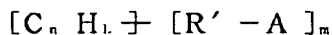
であり、

R' が H であり、そして

Y が、リジン、セリン、トレオニン、チロシン、アスパラギン酸およびグルタミン酸からなる群から選ばれたアミノ酸である、

請求項 13 の合成物。

15. 式

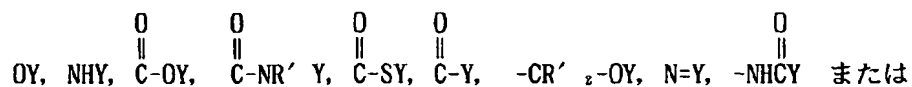


[式中、

炭素原子、C_n は、熱分解付着炭素を実質的に含有しない実質的に円筒状のグラファイト性フィブリルの表面炭素であり、前記フィブリル上のグラファイト層の突起はフィブリル直径少なくとも 2 つ分の距離延びており、

n は整数であり、L は 0.1 n より小さい数であり、m は 0.5 n より小さい数であり、

R' の各々はアルキル、アリール、シクロアルキル、アラルキル、シクロアリール、またはポリ（アルキルエーテル）であり、
Aは

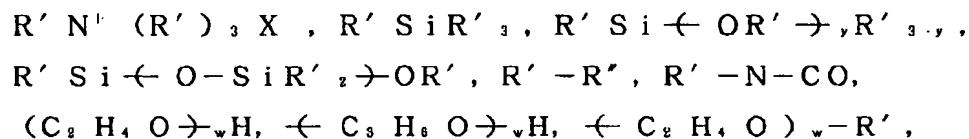


C=Y,

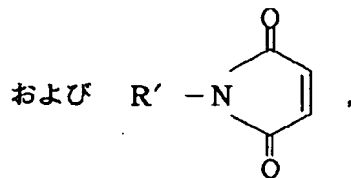
から選ばれ、

Yは、タンパク質、ペプチド、酵素、アミノ酸、抗体、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、抗原、又は酵素基質、酵素阻害剤又は酵素基質の遷移状態類似体の適切な官能基であり、又は

R' -OH, R-NR'₂, R' SH, R' CHO, R' CN, R' X,



(C₃H₆O)ₓ-R', R',



から選ばれ、

yは3以下の整数であり、

R''はフルオロアルキル、フルオロアリール、フルオロシクロアルキルまたはフルオロアラルキルであり、

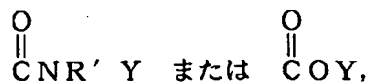
Xはハライドであり、

Zはカルボキシレートまたはトリフルオロアセテートであり、そして

wは1より大きくかつ200より小さい整数である]

の合成物。

16. Aが



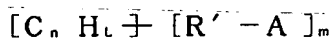
であり、

R' がHであり、そして

Yが、リジン、セリン、トレオニン、チロシン、アスパラギン酸およびグルタミン酸からなる群から選ばれたアミノ酸である、

請求項15の合成物。

17. 式



[式中、

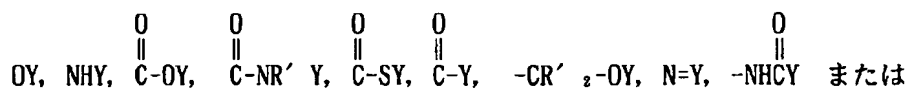
炭素原子、C_nは、フィッシュボーンフィブリルの表面原子であり、

nは整数であり、Lは0. 1 nより小さい数であり、mは0. 5 nより小さい

数であり、

R' の各々はアルキル、アリール、シクロアルキル、アラルキル、シクロアリール、またはポリ（アルキルエーテル）であり、

Aは

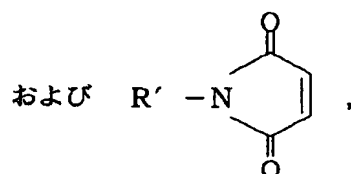
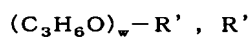
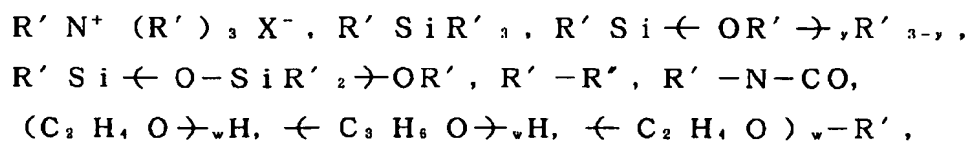


C=Y,

から選ばれ、

Yは、タンパク質、ペプチド、アミノ酸、酵素、抗体、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、抗原、又は酵素基質、酵素阻害剤又は酵素基質の遷移状態類似体の適切な官能基であり、又は

R' -OH, R' -N(R')₂, R' SH, R' CHO, R' CN, R' X,

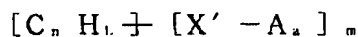


から選ばれ、

- y は3以下の整数であり、
- R' はフルオロアルキル、フルオロアリール、フルオロシクロアルキルまたはフルオロアラルキルであり、
- X はハライドであり、
- Z はカルボキシレートまたはトリフルオロアセテートであり、そして
- w は1より大きくかつ200より小さい整数である]

の合成物。

18. 式

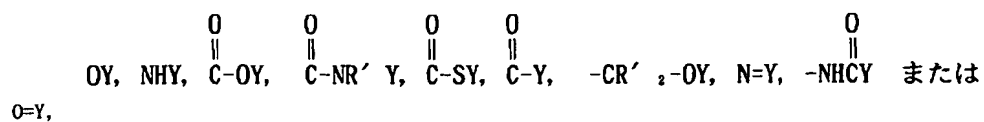


[式中、

炭素原子、 C_n は、5より大きい長さ/直径比と0.5 μ より小さい直径を有する実質的に円筒状のグラファイト性ナノチューブの表面炭素であり、

n は整数であり、L は0.1 nより小さい数であり、m は0.5 nより小さい数であり、a は10より小さい整数であり、

A の各々は



から選ばれ、

Yは、タンパク質、ペプチド、アミノ酸、酵素、抗体、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、抗原、又は酵素基質、酵素阻害剤又は酵素基質の遷移状態類似体の適切な官能基であり、又は

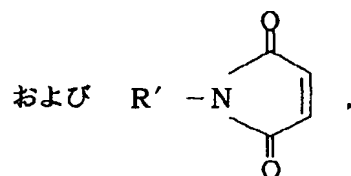
$R' - OH$, $R' - N(R')_2$, $R' - SH$, $R' - CHO$, $R' - CN$, $R' - X$,

$R' - N^+(R')_3 X^-$, $R' - SiR'_3$, $R' - Si(OR')_3$, $R' - Si(OR')_2R''$,

$R' - Si(OR')_2R''$, $R' - R''$, $R' - N - CO$,

$(C_2H_4O)_w - R'$, $(C_3H_6O)_w - R'$, $(C_4H_8O)_w - R'$,

$(C_3H_6O)_w - R'$, R'



から選ばれ、

yは3以下の整数であり、

R'はアルキル、アリール、シクロアルキル、アラルキルまたはシクロアリールであり、

R''はフルオロアルキル、フルオロアリール、フルオロシクロアルキルまたはフルオロアラルキルであり、

Xはハライドであり、

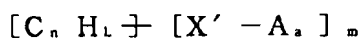
X'は、多核芳香族、ポリヘテロ核芳香族またはメタロポリヘテロ核芳香族成分であり、

Zはカルボキシレートまたはトリフルオロアセテートであり、そして

wは1より大きくかつ200より小さい整数である]

の合成物。

19. 式

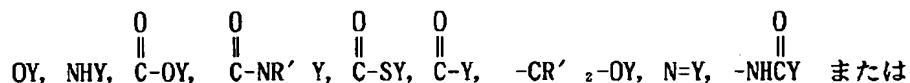


〔式中、

炭素原子、 C_n は、熱分解付着炭素を実質的に含有しない実質的に円筒状のグラファイト性フィブリルの表面炭素であり、前記フィブリル上のグラファイト層の突起はフィブリル直径少なくとも2つ分の距離延びており、

n は整数であり、 L は0.1 n より小さい数であり、 m は0.5 n より小さい数であり、 a は10より小さい整数であり、

A の各々は

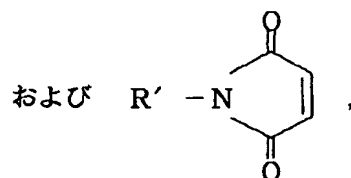
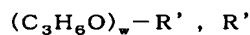
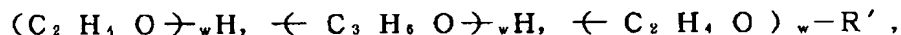
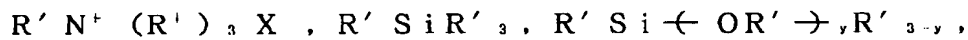


$C=Y$ 、

から選ばれ、

Y は、タンパク質、ペプチド、アミノ酸、酵素、抗体、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、抗原、又は酵素基質、酵素阻害剤又は酵素基質の遷移状態類似体の適切な官能基であり、又は

$R'-OH$, $R'-N(R')_2$, $R'SH$, $R'CHO$, $R'CN$, $R'X$,



から選ばれ、

y は3以下の整数であり、

R' はアルキル、アリール、シクロアルキル、アラルキルまたはシクロアリールであり、

R" はフルオロアルキル、フルオロアリール、フルオロシクロアルキルまたはフルオロアラールキルであり、

X はハライドであり、

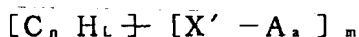
X' は、多核芳香族、ポリヘテロ核芳香族またはメタロポリヘテロ核芳香族成分であり、

Z はカルボキシレートまたはトリフルオロアセテートであり、そして

w は 1 より大きくかつ 200 より小さい整数である]

の合成物。

20. 式

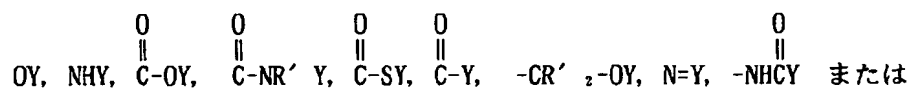


[式中、

炭素原子、C_n は、フィッシュボーンフィブリルの表面原子であり、

n は整数であり、L は 0. 1 n より小さい数であり、m は 0. 5 n より小さい数であり、a は 10 より小さい整数であり、

A の各々は



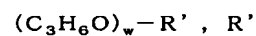
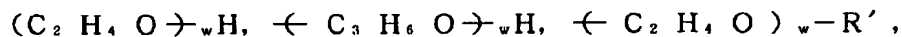
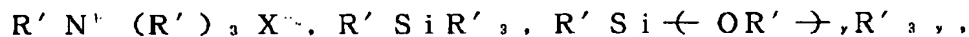
C=Y,

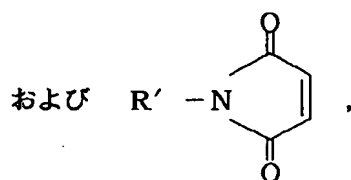
から選ばれ、

Y は、タンパク質、ペプチド、アミノ酸、酵素、抗体、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、抗原、又は酵素基質、酵素阻害剤又は酵素基質の遷移状態類似体

の適切な官能基であり、又は

R' -OH, R' -N(R')₂, R' SH, R' CHO, R' CN, R' X,





から選ばれ、

y は 3 以下の整数であり、

R' はアルキル、アリール、シクロアルキル、アラルキルまたはシクロアリー
ルであり、

R'' はフルオロアルキル、フルオロアリール、フルオロシクロアルキルまたは
フルオロアラルキルであり、

X はハライドであり、

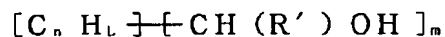
X' は、多核芳香族、ポリヘテロ核芳香族またはメタロポリヘテロ核芳香族成
分であり、

Z はカルボキシレートまたはトリフルオロアセテートであり、そして

w は 1 より大きくかつ 200 より小さい整数である]

の合成物。

21. 式



[式中、

炭素原子、C_n は、実質的に円筒状のグラファイト性ナノチューブの表面炭素
であり、

n は整数であり、L は 0. 1 n より小さい数であり、m は 0. 5 n より小さい
数であり、

R' は水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、アラルキル、シクロアリー
ル、またはポリ（アルキルエーテル）であり、

R'' はフルオロアルキル、フルオロアリール、フルオロシクロアルキルまたは
フルオロアラルキルである]

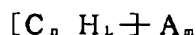
の合成物を生成する方法であって、

ラジカル開始剤の存在下で表面炭素と式 $R'CH_2OH$ を有する化合物とを、

式 $[C_n H_L \text{---} CH(R') OH]_m$ を有する官能化されたナノチューブを生成するのに十分な条件下で、反応させる工程を含む、前記方法。

22. 前記ラジカル開始剤が過酸化ベンゾイルである請求項 21 の方法。

23. 式

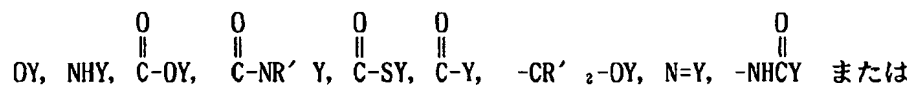


〔式中、

炭素原子、 C_n は、実質的に円筒状のグラファイト性ナノチューブの表面炭素であり、

n は整数であり、 L は $0.1n$ より小さい数であり、 m は $0.5n$ より小さい数であり、

A の各々は

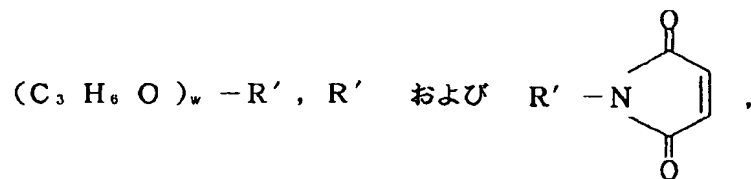
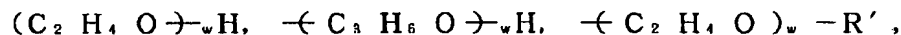


$C=Y$,

から選ばれ、

Y は、タンパク質、ペプチド、アミノ酸、酵素、抗体、オリゴヌクレオチド、ヌクレオチド、抗原、又は酵素基質、酵素阻害剤又は酵素基質の遷移状態類似体の適切な官能基であり、又は

$R'-OH$, $R'-N(R')_2$, $R'SH$, $R'CHO$, $R'CN$, $R'X$,
 $R'SiR'_3$, $R'-N^+(R')_3X^-$, $R'-R''$, $R'-N-CO$,



から選ばれ、

R' は水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、アラルキルまたはシクロアリールであり、

R'' はフルオロアルキル、フルオロアリール、フルオロシクロアルキルまたはフルオロアラルキルであり、

Xはハライドであり、

Zはカルボキシレートまたはトリフルオロアセテートであり、そして

wは1より大きくかつ200より小さい整数である]

の合成物を生成する方法であって、

(a) 表面炭素と少なくとも一つの適切な試薬とを、式 $[C_n H_L \text{---} R_m]$ (式中、Rの各々は同一であって、

SO_3H , $COOH$, NH_2 , OH , $CH(R')OH$, CHO , CN ,

$COCl$, ハライド, $COSH$, SH , $COOR'$, SR' ,

SiR'_3 , $Si \text{---} OR' \text{---} R'_3$, y ,

$Si \text{---} O \text{---} SiR'_2 \text{---} OR'$, R'' , Li , AlR'_2 , $Hg \text{---} X$,

TlZ_2 および $Mg \text{---} X$,

から選ばれ、そしてyは3以下の整数である]を有する置換ナノチューブ

を生成するのに十分な条件下で、反応させ;そして

(b) 置換ナノチューブ $[C_n H_L \text{---} R_m]$ と少なくとも一つの適切な試薬とを、

式 $[C_n H_L \text{---} A_m]$ を有する官能化されたナノチューブを生成するのに

十分な条件下で、反応させる

諸工程を含む、前記方法。

24. 式

$[C_n H_L \text{---} A_m]$

(式中、

炭素原子、 C_n は、5より大きい長さ/直径比と0.1 μ より小さい直径を有する実質的に円筒状のグラファイト性ナノチューブの表面炭素であり、

nは整数であり、Lは0.1 nより小さい数であり、mは0.5 nより小さい数であり、

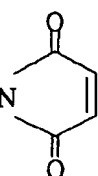
Aの各々は

$\text{OY, NHY, } \overset{\text{O}}{\parallel}\text{C-OY, } \overset{\text{O}}{\parallel}\text{C-NR' Y, } \overset{\text{O}}{\parallel}\text{C-SY, } \overset{\text{O}}{\parallel}\text{C-Y, -CR'}_2\text{-OY, N=Y, -NHCY}$ または
 C=Y,
 から選ばれ、

Y は、タンパク質、ペプチド、アミノ酸、酵素、抗体、オリゴヌクレオチド、
 ヌクレオチド、抗原、又は酵素基質、酵素阻害剤又は酵素基質の遷移状態類似体
 の適切な官能基であり、又は

$\text{R' -OH, R' -N(R')}_2, \text{R' SH, R' CHO, R' CN, R' X,}$
 $\text{R' SiR'}_3, \text{R' -N}^+(\text{R'})_3\text{X}^-, \text{R' -R''}, \text{R' -N-CO,}$

$(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_w\text{H, } -(\text{C}_3\text{H}_6\text{O})_w\text{H, } -(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_w\text{-R'},$

$(\text{C}_3\text{H}_6\text{O})_w\text{-R'}, \text{R'}$ および R' -N


から選ばれ、

R' は水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、アラルキルまたはシクロ
 アリールであり、

R'' はフルオロアルキル、フルオロアリール、フルオロシクロアルキルまたは
 フルオロアラルキルであり、

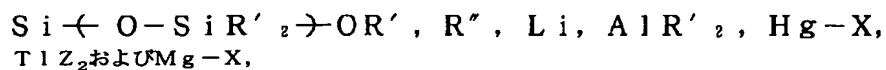
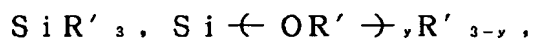
X はハライドであり、

Z はカルボキシレートまたはトリフルオロアセテートであり、そして

w は1より大きくかつ200より小さい整数である]
 の合成物を生成する方法であって、

(a) 表面炭素と少なくとも一つの適切な試薬とを、式 $[\text{C}_n\text{H}_l + \text{R}_m]$ (式
 中、 R の各々は

$\text{SO}_3\text{H, COOH, NH}_2, \text{OH, CH(R')OH, CHO, CN,}$
 $\text{COCl, ハライド, COSH, SH, COOR'}, \text{SR'},$



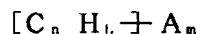
から選ばれ、そして y は 3 以下の整数である) を有する置換ナノチューブを生成するのに十分な条件下で、反応させ; そして

(b) 置換ナノチューブ $[\text{C}_n \text{H}_L \rightarrow \text{R}_m]$ と少なくとも一つの適切な試薬とを、

式 $[\text{C}_n \text{H}_L \rightarrow \text{A}_m]$ を有する官能化されたナノチューブを生成するのに十分な条件下で、反応させる

諸工程を含む、前記方法。

25. 式

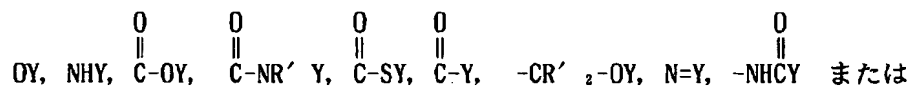


[式中、

炭素原子、 C_n は、熱分解付着炭素を実質的に含有しない実質的に円筒状のグラファイト性ナノチューブの表面炭素であり、

n は整数であり、 L は $0.1n$ より小さい数であり、 m は $0.5n$ より小さい数であり、

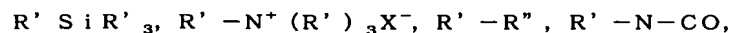
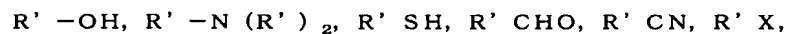
A の各々は

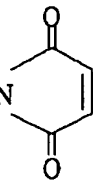
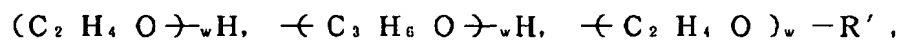


$\text{C}=\text{Y}$,

から選ばれ、

Y は、タンパク質、ペプチド、アミノ酸、酵素、抗体、オリゴヌクレオチド、ヌクレオチド、抗原、又は酵素基質、酵素阻害剤又は酵素基質の遷移状態類似体の適切な官能基であり、又は





から選ばれ、

R' は水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、アラルキルまたはシクロアリールであり、

R'' はフルオロアルキル、フルオロアリール、フルオロシクロアルキルまたはフルオロアラルキルであり、

Xはハライドであり、

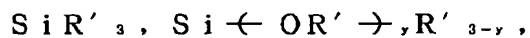
Zはカルボキシレートまたはトリフルオロアセテートであり、そして

wは1より大きくかつ200より小さい整数である]

の合成物を生成する方法であって、

(a) 表面炭素と少なくとも一つの適切な試薬とを、式 $[\text{C}_n\text{H}_l\text{R}_m]$ [式中、Rの各々は

SO_3H , COOH , NH_2 , OH , CH(R')OH , CHO , CN ,
 COCl , ハライド, COSH , SH , COOR' , SR' ,



TiZ_2 および Mg-X ,

から選ばれ、そしてyは3以下の整数である]を有する置換ナノチューブ

を生成するのに十分な条件下で、反応させ;そして

(b) 置換ナノチューブ $[\text{C}_n\text{H}_l\text{R}_m]$ と少なくとも一つの適切な試薬とを、

式 $[\text{C}_n\text{H}_l\text{A}_m]$ を有する官能化されたナノチューブを生成するのに
 十分な条件下で、反応させる

諸工程を含む、前記方法。

26. 式

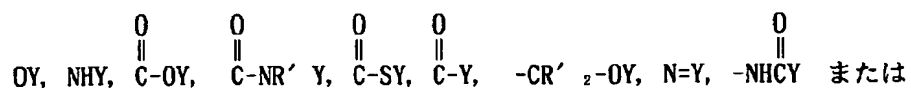


〔式中、

炭素原子、 C_n は、実質的に円筒状のグラファイト性ナノチューブの表面炭素であり、

n は整数であり、 L は $0.1n$ より小さい数であり、 m は $0.5n$ より小さい数であり、

A の各々は

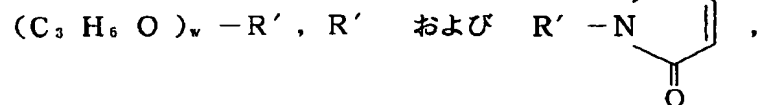
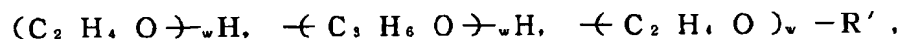


$C=Y,$

から選ばれ、

Y は、タンパク質、ペプチド、アミノ酸、酵素、抗体、オリゴヌクレオチド、ヌクレオチド、抗原、又は酵素基質、酵素阻害剤又は酵素基質の遷移状態類似体の適切な官能基であり、又は

$R'-OH, R'-N(R')_2, R'SH, R'CHO, R'CN, R'X,$
 $R'SiR'_3, R'-N^+(R')_3X^-, R'-R'', R'-N-CO,$



から選ばれ、

R' は水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、アラルキルまたはシクロアリールであり、

R'' はフルオロアルキル、フルオロアリール、フルオロシクロアルキルまたはフルオロアラルキルであり、

X はハライドであり、

Z はカルボキシレートまたはトリフルオロアセテートであり、そして

w は1より大きくかつ200より小さい整数である]

の合成物を生成する方法であって、

置換ナノチューブ $[C_n H_L \text{---} R_m]$ と少なくとも一つの適切な試薬とを、式

$[C_n H_L \text{---} A_m]$ を有する官能化されたナノチューブを生成するのに十分な条件下で反応させる工程を含み、Rの各々は同一であって、
 SO_3H , $COOH$, NH_2 , OH , $CH(R')OH$, CHO , CN , $COCl$,
 ハライド, $COSH$, SH , $COOR'$, SR' , SiR'_3 ,

$Si(OR')_y R'_{3-y}$, $Si(O-SiR'_2)_y OR'$, R'' , Li ,
 AlR'_2 , $Hg-X$, TlZ_2 および $Mg-X$,
 から選ばれ、そして y は 3 以下の整数である、前記方法。

27. 式

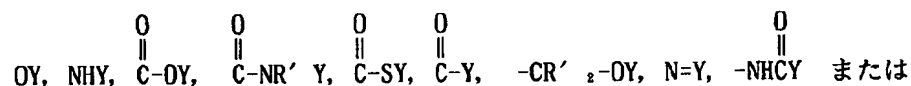


〔式中、

炭素原子、 C_n は、5 より大きい長さ／直径比と 0.1 μ より小さい直径を有する実質的に円筒状のグラファイト性ナノチューブの表面炭素であり、

n は整数であり、L は 0.1 n より小さい数であり、m は 0.5 n より小さい数であり、

A の各々は

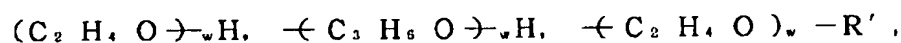


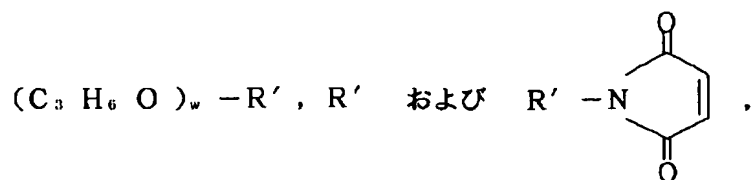
$C=Y$,

から選ばれ、

Y は、タンパク質、ペプチド、アミノ酸、酵素、抗体、オリゴヌクレオチド、ヌクレオチド、抗原、又は酵素基質、酵素阻害剤又は酵素基質の遷移状態類似体の適切な官能基であり、又は

$R'-OH$, $R'-N(R')_2$, $R'-SH$, $R'-CHO$, $R'-CN$, $R'-X$,
 $R'-SiR'_3$, $R'-N^+(R')_3 X^-$, $R'-R''$, $R'-N-CO$,





から選ばれ、

R' は水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、アラルキルまたはシクロアリールであり、

R'' はフルオロアルキル、フルオロアリール、フルオロシクロアルキルまたはフルオロアラルキルであり、

X はハライドであり、

Z はカルボキシレートまたはトリフルオロアセテートであり、そして

w は 1 より大きくかつ 200 より小さい整数である]

の合成物を生成する方法であって、

置換ナノチューブ $[\text{C}_n\text{H}_L]_m\text{R}'_m$ と少なくとも一つの適切な試薬とを、式

$[\text{C}_n\text{H}_L]_m\text{A}_m$ を有する官能化されたナノチューブを生成するのに十分な条件下で反応させる工程を含み、R の各々は SO_3H , COOH , NH_2 , OH , $\text{CH}(\text{R}')\text{OH}$, CHO , CN , COCl , ハライド, COSH , SH , COOR' , SR' , SiR'_3 ,

$\text{Si}(\text{OR}')_3$, R'_{3-y} , $\text{Si}(\text{O}-\text{SiR}'_2)_y\text{OR}'$, R' , Li , AlR'_2 , $\text{Hg}-\text{X}$, TlZ_2 および $\text{Mg}-\text{X}$, から選ばれ、そして y は 3 以下の整数である、前記方法。

28. 式



[式中、

炭素原子、 C_n は、熱分解付着炭素を実質的に含有しない実質的に円筒状のグラファイト性ナノチューブの表面炭素であり、

n は整数であり、L は 0.1 n より小さい数であり、m は 0.5 n より小さい数であり、

A の各々は

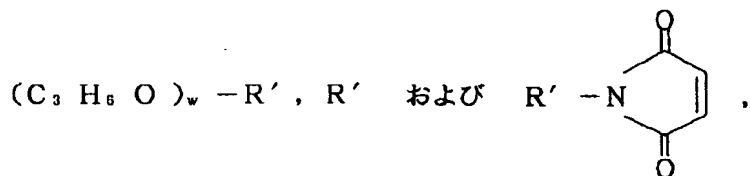
$\text{OY, NHY, } \overset{\text{O}}{\parallel}\text{C-OY, } \overset{\text{O}}{\parallel}\text{C-NR' Y, } \overset{\text{O}}{\parallel}\text{C-SY, } \overset{\text{O}}{\parallel}\text{C-Y, } -\text{CR'}_2\text{-OY, N=Y, } \overset{\text{O}}{\parallel}\text{NHCY}$ または
 C=Y,

から選ばれ、

Yは、タンパク質、ペプチド、アミノ酸、酵素、抗体、オリゴヌクレオチド、ヌクレオチド、抗原、又は酵素基質、酵素阻害剤又は酵素基質の遷移状態類似体の適切な官能基であり、又は

$\text{R' -OH, R' -N(R')}_2, \text{R' SH, R' CHO, R' CN, R' X,}$
 $\text{R' SiR'}_3, \text{R' -N}^+(\text{R'})_3\text{X}^-, \text{R' -R''}, \text{R' -N-CO,}$

$(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_w\text{H, } \text{-(C}_3\text{H}_6\text{O)}_w\text{H, } \text{-(C}_2\text{H}_4\text{O)}_w\text{-R' ,}$



から選ばれ、

R' はアルキル、アリール、シクロアルキル、アラルキルまたはシクロアリールであり、

R' はフルオロアルキル、フルオロアリール、フルオロシクロアルキルまたはフルオロアラルキルであり、

Xはハライドであり、

Zはカルボキシレートまたはトリフルオロアセテートであり、そして

wは1より大きくかつ200より小さい整数である]

の合成物を生成する方法であって、

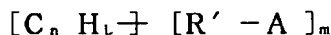
置換ナノチューブ $[\text{C}_n\text{H}_l]_m\text{R}_m$ と少なくとも一つの適切な試薬とを、式

$[\text{C}_n\text{H}_l]_m\text{A}_m$ を有する官能化されたナノチューブを生成するのに十分な条件下で反応させる工程を含み、Rの各々は

$\text{SO}_3\text{H, COOH, NH}_2, \text{OH, CH(R')OH, CHO, CN, COCl,}$
 $\text{ハライド, COSH, SH, COOR' , SR' , SiR'}_3,$

$\text{Si} \left(\text{OR}' \right)_y \text{R}'_3$, $\text{Si} \left(\text{O-SiR}'_2 \right)_y \text{OR}'$, R'' , Li ,
 AlR'_3 , Hg-X , TiZ_2 および Mg-X ,
 から選ばれ、そして y は 3 以下の整数である、前記方法。

29. 式



〔式中、

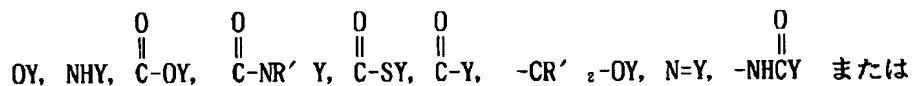
炭素原子、 C_n は、実質的に円筒状のグラファイト性ナノチューブの表面炭素であり、

n は整数であり、 L は 0. $1n$ より小さい数であり、 m は 0. $5n$ より小さい数であり、

R' はアルキル、アリール、シクロアルキル、アラルキル、シクロアリール、又はポリ（アルキルエーテル）であり、

X はハライドであり、

A の各々は

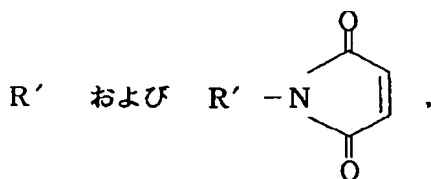
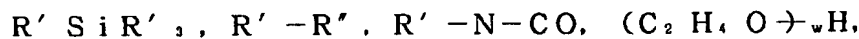


C=Y ,

から選ばれ、

Y は、タンパク質、ペプチド、アミノ酸、酵素、抗体、オリゴヌクレオチド、ヌクレオチド、抗原、又は酵素基質、酵素阻害剤又は酵素基質の遷移状態類似体の適切な官能基であり、又は

$\text{R}' - \text{OH}$, $\text{R}' - \text{NH}_2$, $\text{R}' - \text{SH}$, $\text{R}' - \text{CHO}$, $\text{R}' - \text{CN}$, $\text{R}' - \text{X}$,



から選ばれ、

R'' はフルオロアルキル、フルオロアリール、フルオロシクロアルキルまたはフルオロアラルキルであり、そして

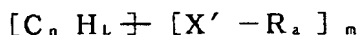
Z はカルボキシレートまたはトリフルオロアセテートである]
の合成物を生成する方法であって、

式 $[C_n H_L]_n [R' - R]_m$ を有する置換ナノチューブと少なくとも一つの

適切な試薬とを、式 $[C_n H_L]_n [R' - A]_m$ を有する官能化されたナノチューブを生成するのに十分な条件下で反応させる工程を含み、R の各々は SO_3H , $COOH$, NH_2 , OH , $CH(R')OH$, CHO , CN , $COCl$, ハライド, $COSH$, SH , $COOR'$, SR' , SiR'_3 ,

$Si \leftarrow OR' \rightarrow, R'_{3-y}, Si \leftarrow O-SiR'_2 \rightarrow OR', R'', Li, AlR'_2, Hg-X, TlZ_2$ および $Mg-X$,
から選ばれ、そして y は 3 以下の整数である、前記方法。

30. 式



[式中、

炭素原子、 C_n は、実質的に円筒状のグラファイト性ナノチューブの表面炭素であり、

n は整数であり、L は 0.1 n より小さい数であり、m は 0.5 n より小さい数であり、a はゼロ又は 10 より小さい整数であり、

R の各々は SO_3H , $COOH$, NH_2 , OH , $CH(R')OH$, CHO , CN , $COCl$, ハライド, $COSH$, SH , $COOR'$, SR' , SiR'_3 ,

$Si \leftarrow OR' \rightarrow, R'_{3-y}, Si \leftarrow O-SiR'_2 \rightarrow OR', R'', Li, AlR'_2, Hg-X, TlZ_2$ および $Mg-X$,

から選ばれ、

y は 3 以下の整数であり、

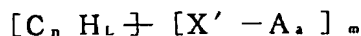
R' はアルキル、アリール、シクロアルキル、アラルキルまたはシクロアリールであり、

Xはハライドであり、
X' は、多核芳香族、ポリヘテロ核芳香族またはメタロポリヘテロ核芳香族成分であり、
R'' はフルオロアルキル、フルオロアリール、フルオロシクロアルキルまたはフルオロアラルキルであり、そして
Zはカルボキシレートまたはトリフルオロアセテートである]
の合成物を生成する方法であって、
グラファイト性ナノチューブの表面上に少なくとも一つの適切なマクロ環状化

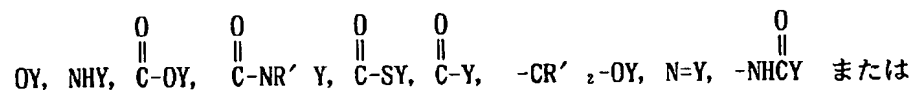
合物を、式 $[C_n H_L]_m [X' - R_a]_m$ を有する官能化されたナノチューブを

生成するのに十分な条件下で、吸着させる工程を含む、前記方法。

31. 式



[式中、
炭素原子、 C_n は、実質的に円筒状のグラファイト性ナノチューブの表面炭素であり、
nは整数であり、Lは0.1nより小さい数であり、mは0.5nより小さい数であり、aは10より小さい整数であり、
Aの各々は



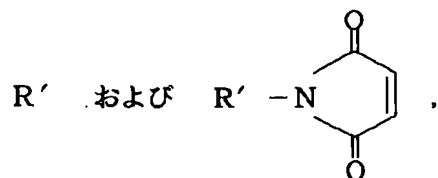
$C=Y,$

から選ばれ、

Yは、タンパク質、ペプチド、アミノ酸、酵素、抗体、オリゴヌクレオチド、ヌクレオチド、抗原、又は酵素基質、酵素阻害剤又は酵素基質の遷移状態類似体の適切な官能基であり、又は

$R' -OH, R' -NH_2, R' SH, R' CHO, R' CN, R' X,$

$R' - SiR'_3$, $R' - R''$, $R' - N - CO$, $(C_2H_4O)_wH$,
 $(C_3H_6O)_wH$, $(C_2H_4O)_w - R'$, $(C_3H_6O)_w - R'$,



から選ばれ、

R' は水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、アラルキルまたはシクロアリールであり、

R'' はフルオロアルキル、フルオロアリール、フルオロシクロアルキルまたはフルオロアラルキルであり、

X はハライドであり、

X' は、多核芳香族、ポリヘテロ核芳香族またはメタロポリヘテロ核芳香族成分であり、

Z はカルボキシレートまたはトリフルオロアセテートであり、そして

w は1より大きくかつ200より小さい整数である]

の合成物を生成する方法であって、

(a) グラファイト性ナノチューブの表面上に少なくとも一つの適切なマクロ

環状化合物を、式 $[C_nH_L]_m [X' - R_s]_n$ [式中、 R の各々は SO_3H , $COOH$, NH_2 , OH , CHO , CN , $COCl$, ハライド, $COSH$, SH , $COOR'$, SR' , SiR'_3 ,

$Si(OR')_3$, R'_3Si , $Si(O-SiR'_2)_2OR'$, R'' ,

Li , AlR'_2 , $Hg-X$, TlZ_2 および $Mg-X$,

から選ばれ、そして y は3以下の整数である] を有する置換ナノチューブを生成するのに十分な条件下で、吸着させ;そして

(b) 置換ナノチューブ $[C_nH_L]_m [X' - R_s]_n$ と少なくとも一つの適

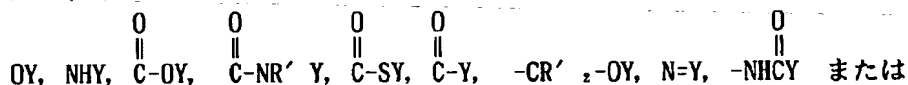
切な試薬とを、式 $[C_nH_L]_m [X' - A_s]_m$ を有する官能化されたナノチューブを生成するのに十分な条件下で、反応させる

32. 式



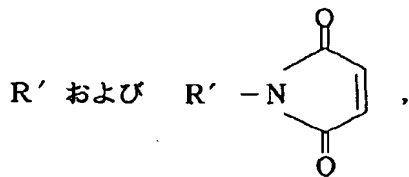
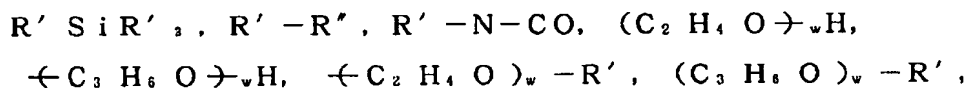
n は整数であり、 L は $0, 1, n$ より小さい数であり、 m は $0, 5, n$ より小さい数であり、 a は $1, 0$ より小さい整数であり、

Aの各々は



から選ばれ、

Yは、タンパク質、ペプチド、アミノ酸、酵素、抗体、オリゴヌクレオチド、ヌクレオチド、抗原、又は酵素的基質、酵素的阻害剤又は酵素的基質の遷移状態類似体の適切な官能基であり、又は



R' はアルキル、アリール、シクロアルキル、アラルキルまたはシクロアリールであり、

R² はフルオロアルキル、フルオロアリール、フルオロシクロアルキルまたはフルオロアラルキルであり、

Xはハライドであり、

X' は、多核芳香族、ポリヘテロ核芳香族またはメタロポリヘテロ核芳香族成分であり、

Z はカルボキシレートまたはトリフルオロアセテートであり、そして

w は 1 より大きくかつ 200 より小さい整数である]

の合成物を生成する方法であって、

置換ナノチューブ $[C_n H_L \text{---} [X' - R_a]_m]$ と少なくとも一つの適切な試

薬とを、式 $[C_n H_L \text{---} [X' - A_a]_m]$ を有する官能化されたナノチューブを生成するのに十分な条件下で、反応させる工程を含み、R の各々が

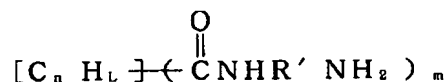
SO₃H, COOH, NH₂, OH, CHO, CN, COCl, ハライド, CO

SH, SH, COOR', SR', SiR'₃, Si(OR')₃, R'₃Si-,

Si(O-SiR'₂)₂-OR', R'', Li, AlR'₂, Hg-X, TlZ₂ および Mg-X,

から選ばれ、そして y は 3 以下の整数である、前記方法。

33. 式



(式中、

炭素原子、C_n は、実質的に円筒状のグラファイト性ナノチューブの表面炭素であり、

n は整数であり、L は 0.1 n より小さい数であり、そして m は 0.5 n より小さい数であり、

R' はアルキル、アリール、シクロアルキルまたはシクロアリールである)

の合成物を生成する方法であって、

表面炭素と少なくとも一つの適切な試薬とを、式 $[C_n H_L \text{---} \text{COOH}]_m$ を有する官能化されたナノチューブを生成するのに十分な条件下で、反応させ；

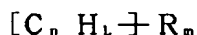
そして

その官能化されたナノチューブと、アミノ基を 2 つ又はそれ以上有する化合物との、式



を有する官能化されたナノチューブを生成するのに十分な条件下で反応させる、
諸工程を含む、前記方法。

34. 式



〔式中、

炭素原子、 C_n は、実質的に円筒状のグラファイト性ナノチューブの表面炭素
であり、

n は整数であり、 L は $0.1n$ より小さい数であり、 m は $0.5n$ より小さい
数であり、

R の各々は同一であって、

SO_3H , $COOH$, NH_2 , OH , $CH(R')OH$, CHO , CN , $COCl$
, ハライド, $COSH$, SH , $COOR'$, SR' , SiR'_3 ,

$Si(OR')_3$, R'_3 , $Si(O-SiR'_2)_2OR'$, R'' , Li ,
 AlR'_2 , $Hg-X$, TlZ_2 および $Mg-X$,
から選ばれ、

y は3以下の整数であり、

R' は水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、アラルキルまたはシクロ
アリールであり、

R'' はフルオロアルキル、フルオロアリール、フルオロシクロアルキルまたは
フルオロアラルキルであり、

X はハライドであり、

Z はカルボキシレートまたはトリフルオロアセテートである]

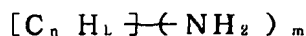
の合成物を生成する方法であって、

表面炭素と、ナノチューブを基質として受け入れることができる少なくとも一

つの酵素とを反応させ、そして式 $[C_n H_L - R_m]$ の物質の組成物を生じる化学
反応を、この少なくとも一つの酵素がこの反応を行うのを許容できる条件下で、
水性懸濁液で、行う工程を含む、前記方法。

35. R_m が $-OH$ であり、そして酵素がチトクロムP450酵素又はペルオキシダーゼである、請求項34の方法。

36. 式



(式中、

炭素原子、 C_n は、実質的に円筒状のグラファイト性ナノチューブの表面炭素であり、

n は整数であり、 L は $0.1n$ より小さい数であり、そして m は $0.5n$ より小さい数である)

の合成物を生成する方法であって、

表面炭素を硝酸及び硫酸と反応させて硝酸化ナノチューブを生成し；そして

硝酸化ナノチューブを還元して $[C_n H_L \text{---} (NH_2)]_m$ を生成する

諸工程を含む、前記方法。

37. カーボンナノチューブを、該カーボンナノチューブの表面上に官能基を均一に置換することが可能な反応体の有効量と接触させることを含む、カーボンナノチューブの表面を官能基によって均一に置換する方法。

38. 反応体がフタロシアニンである、請求項37の方法。

39. 反応体がニッケル(II)フタロシアニンテトラスルホン酸(テトラナトリウム塩)または1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25-オクタプトキシー29H, 31H-フタロシアニンである、請求項38の方法。

40. カーボンナノチューブを、該カーボンナノチューブの表面上に官能基を置換するための反応体の有効量と接触させることを含む方法によって製造された表面修飾カーボンナノチューブ。

41. 反応体がフタロシアニンである、請求項40の表面修飾カーボンナノチューブ。

42. 反応体がニッケル(II)フタロシアニンテトラスルホン酸(テトラナトリウム塩)または1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25-オクタプトキシー29H, 31H-フタロシアニンである、請求項42の表面修飾カーボンナノチューブ。

43. NHSエステル基を担持するナノチューブとタンパク質とを、NHSエステルとタンパク質のアミン基との間に共有結合を形成するのに十分な条件下で、接触させる工程を含む、ナノチューブにタンパク質を連結させる方法。

44. 官能化されたナノチューブを含む電極。

45. 電極が多孔性フロースルー電極である、請求項44の電極。

46. 官能化されたナノチューブがフタロシアニン置換ナノチューブである請求項45の電極。

47. 官能化されたナノチューブの網状構造の多重からなる多孔性材料であって、前記の官能化されたナノチューブの網状構造は少なくとも1つのリンカー成分によって官能基で連結されている少なくとも2つの官能性フィブリルからなり、前記リンカー成分が二官能性または多官能性どちらかである、前記多孔性材料。

48. 試料から対象溶質を分離する方法であって、

官能化されたナノチューブを生成するのに十分な条件下で、グラファイト性ナノチューブの表面炭素を少なくとも一つの適切な試薬によって物理的又は化学的に修飾し；

官能化されたナノチューブ上に、対象溶質と結合可能な基質を固定化し；そして

官能化されたナノチューブ上に固定化された基質に対象溶質が結合するのに十分な条件下で、置換ナノチューブを対象溶質含有画分に曝す諸工程を含む、前記方法。

49. 対象溶質がタンパク質である、請求項48の方法。

50. 官能化されたナノチューブを回収する工程を更に含む、請求項49の方法。

51. 官能化されたナノチューブが多孔性マットの形態にある、請求項48の方法。

52. 官能化されたナノチューブが充填カラムの形態にある、請求項48の方法。

53. 結合が可逆的である、請求項48の方法。

54. 結合がイオン性相互作用である、請求項48の方法。

55. 結合が疎水性相互作用である、請求項48の方法。
56. 結合が特異分子認識を介してである、請求項48の方法。

57. 官能化されたナノチューブの複数と連結している25 μ より小さい直径を有する本質的に球形のビーズを含むポリマービーズ。

58. ビーズが磁性である、請求項57のポリマービーズ。

59. 少なくとも一つの反応体が少なくとも一つの生成物に転化される反応を触媒する方法であって、

官能化されたナノチューブを生成するのに十分な条件下で、グラファイト性ナノチューブの表面炭素を少なくとも一つの適切な試薬によって物理的又は化学的に修飾し；

官能化されたナノチューブ上に、反応を触媒できる生体触媒を固定化し；そして

官能化されたナノチューブと反応体（単数または複数）とを、反応体（単数または複数）が生成物（単数または複数）に転化するのに十分な条件下で、接触させる

諸工程を含む、前記方法。

60. 官能化されたナノチューブを、反応が完了した後に回収する工程を更に含む、請求項59の方法。

61. 官能化されたナノチューブが多孔性マットの形態にある、請求項59の方法。

62. 官能化されたナノチューブが充填カラムの形態にある、請求項59の方法。

63. ペプチドの末端アミノ基を可逆的リンカーを介してナノチューブに結合させる工程を含む、ペプチドを合成する方法。

64. リンカーが4-（ヒドロキシメチル）フェノキシ酢酸である、請求項63の方法。

【発明の詳細な説明】

官能化されたナノチューブ

関連出願のクロス・リファレンス

本願は1994年12月8日出願された米国出願第08/352,400号の一部継続出願であり、原出願の内容は本願明細書中に組み入れられる。

発明の分野

広くは、本発明は化学的置換によって又は官能性成分の吸着によって官能化されているグラファイト性ナノチューブに関し、管状フラーレン（通常、「バッキーチューブ」と称する）やフィブリルをも包含する。より詳しくは、本発明は、化学的成分によって均一に又は不均一に置換されている又は特定の環式化合物が吸着されているグラファイト性ナノチューブに関する、及びかかる官能化されたフィブリルが互いに連結されて成る複合体構造(complex structure)に関する。本発明はまた、かかるフィブリルの表面に官能基を導入する方法に関する。

発明の背景

本発明はしばしば蒸着成長カーボンファイバー (vapor grown carbon fiber) と称されるサブミクロンのグラファイト性フィブリルの分野に属する。カーボンフィブリルは、直径が1.0 μ より小さい、好ましくは0.5 μ より小さい、更により好ましくは0.2 μ より小さい、バーミキュラー カーボン デポジット (vermicular carbon deposit)である。それらは多様な形態で存在するが、様々な炭素含有気体の金属表面での接触分解を通して製造される。かかるバーミキュラー カーボン デポジットは電子顕微鏡の出現以来殆ど観察されている。十分に早い時期の調査及び資料は、Baker and Harris, Chemistry and Physics of Carbon, Waker and Thrower ed., Vol. 14, 1978, p. 83に見いだされ、それは本願明細書中に組み入れられる。また、Rodriguez, N., J. Mater. Reseach, Vol. 8, p. 3233 (1993)を参照、それも本願明細書中に組み入れられる。

1976年に、遠藤ら (Obelin, A., and Endo, M., J. of Crystal Growth,

Vol. 32 (1976), pp. 335-349参照、それは本願明細書中に組み

入れられる) はかかるカーボンフィブリルの成長の基本的メカニズムを解明した。炭化水素含有気体の存在下では炭素の中に過飽和するようになる金属触媒粒子に由来することがわかった。円筒状の秩序化されたグラファイトコアが押し出され、それは遠藤らによれば熱分解付着グラファイト (pyrolytically deposited graphite) の外層で直ちに被覆されてしまう。熱分解オーバーコートを有するこれらフィブリルは直径が 0.1μ を越し、より一般的には $0.2\sim 0.5\mu$ である。

1983年には、テナント(Tennent)の米国特許第4,663,230号(これは本願明細書中に組み入れられる)は熱分解炭素によって汚染されていない円筒状の秩序化されたグラファイトコアを成長させることに成功した。従って、テナントの発明はより小さい直径の、代表的には $35\sim 700$ オングストローム($0.0035\sim 0.070\mu$)のフィブリルの入手及び「成長したとき(asgrown)」秩序化されているグラファイト表面の入手を提供した。しかし、熱分解炭素の外層をもたないけれども、もっと完全でない構造のフィブリル炭素も成長した。

本願における官能化されたフィブリル、バッキーチューブ及びナノチューブは補強材として市販されている連続カーボンファイバーとは区別される。アスペクト比が望ましいことに大きいが限定されることを回避できないフィブリルとは対照的に、連続カーボンファイバーはアスペクト比(L/D)が少なくとも 10^4 であり、しばしば 10^6 以上である。また、連続ファイバーの直径はフィブリルのそれよりもはるかに大きく、常に、 $>1.0\mu$ であり、代表的には、 $5\sim 7\mu$ である。

連続カーボンファイバーは、有機前駆体ファイバー、通常、ナイロン、ポリアクリロニトリル(PAN)及びビッチ、の熱分解によって製造される。従って、それらはその構造の内部にヘテロ原子を包含しているであろう。「製造されたとき(as made)」連続のカーボンファイバーのグラファイト特性は多様である、しかし、それらのファイバーは後でグラファイト化工程を受けてもよい。存在するならばグラファイト平面のグラファイト化度、配向度および結晶化度の相違、へ

テロ原子の存在の可能性、および更には基質直径の絶対的相違は、連続ファイバーによる経験はナノファイバー化学の予想に役立たない。

テナントの米国特許第4, 663, 230号には、連続の熱的カーボン外被を含有しないで、フィブリル軸に実質的に平行な多数のグラファイト外層を有するカーボンフィブリルが記載されている。たとえば、それらは、グラファイトの湾曲層の接線に対して垂直である（すなわち、それらの円筒軸に対して実質的に垂直である）c軸を有するものとして特徴付けられるであろう。それらは一般的には0.1 μ 以下の直径と少なくとも5の長さ／直径比を有する。望ましくは、それらは、連続の熱的カーボン外被、即ち、それらを製造するのに使用した気体供給材料の熱分解からもたらされる熱分解付着炭素、を実質的に含有しない。

テナントの米国特許第5, 171, 560号（これは本願明細書中に組み入れられる）には、熱的外被を含有せずに、フィブリル軸に実質的に平行なグラファイト層を有し前記フィブリル軸上の前記層の突起がフィブリル直径少なくとも2つ分の距離延びているカーボンフィブリルが記載されている。代表的には、かかるフィブリルは実質的に一定の直径を有する実質的に円筒状のグラファイト性ナノチューブであり、それはそのc軸がその円筒軸に対して実質的に垂直であるところの円筒状のグラファイトのシートからなる。それらは熱分解付着炭素を実質的に含有しないし、0.1 μ より小さい直径と5より大きい長さ／直径比を有する。これらフィブリルは本発明においても第一に関心がある。

カーボンフィブリル集合体の生成に関する更なる詳細は、1988年1月28日出願のスナイダー（Snyder）らの米国特許出願第149, 573号、及び1989年1月28日出願のPCT出願US89/00322号（「カーボンフィブリル」）WO89/07163、及び1989年9月28日出願のモイ（Moy）らの米国特許出願第413, 837号、及び1990年9月27日出願のPCT出願第US90/05498号（「フィブリル集合体及びその製法」）WO91/05089、の開示の中に見いだされる。これらはいずれも本発明と同じ譲受人に対して譲渡されており、いずれも本願明細書中に組み入れられる。

1992年5月22日出願のモイらの米国特許出願第07/887, 307号（これは本願明細書中に組み入れられる）には、（走査電子顕微鏡検査法によつ

て測定したときの) 様々な巨視的形態を有する集合体として製造されたフィブリルが記載されており、そこでは、それらは鳥の巣 (bird nest) (「BN」) に似ているフィブリルの絡み合ったボールを形成するように互いに無作為に絡み合っている; 又は、実質的に同じ相対整列を有し梳毛糸 (combed yarn) (「CY」) の外観を有する僅かに曲がった又はねじれたカーボンフィブリルに対して真っ直ぐな束からなる集合体として存在する、例えば、各フィブリルの長軸は (個々の曲がり又はねじれにもかかわらず) 束の中の取り囲んでいるフィブリルのそれと同じ方向に延びている; 又は、「オープン ネット (open net) 」 (「ON」) 構造を形成するように互いにゆるく絡み合っている僅かに曲がった又はねじれたフィブリルに対して真っ直ぐに構成されている集合体として存在する。オープンネット構造においてはフィブリルの絡み合いの度合いは、(個々のフィブリルが実質的に同じ相対整列を有する) 梳毛糸的集合体において観察されるものよりも大きい、鳥の巣のそれよりも少ない。CY集合体およびCN集合体はBNよりも容易に分散され、そのことはそれらをして、構造全体に様な性質が望まれる複合体の製造に有効ならしめる。

フィブリル軸上のグラファイト層の突起がフィブリル直径2つ分より小さい距離延びている場合には、グラファイト性ナノチューブの断面における炭素平面はヘリングボーン (herring bone) 外観をおびる。これらをフィッシュボーン フィブリルと称する。ギアス (Geus) の米国特許第4, 855, 091号 (これは本願明細書中に組み入れられる) は、熱分解外被を実質的に含有しないフィッシュボーン フィブリルの製造手順を提供している。これらフィブリルも本発明の実施に有効である。

上記の触媒作用で成長したフィブリルに類似する形態を有するカーボンナノチューブは高温の炭素アークで成長した (Iijima, Nature 354, 56, 1991)。今では、これらアーク成長ナノチューブはテナントの触媒成長フィブリルと同じ形態を有することが一般に受け入れられている (Weaver, Science 265 1994)。アーク成長したカーボン ナノチューブも本発明に有効である。

1989年5月31日に出願されたマッカーシー (McCarthy) らの米国特許出願第351, 967号 (これは本願明細書中に組み入れられる) には、カーボン

フィブリルの表面を酸化する方法が記載されており、それはフィブリルの表面を酸化するのに十分な反応条件（例えば、時間、温度、及び圧力）の下でフィブリル、硫酸(H_2SO_4)や塩素酸カリウム(KClO_3)も包含する酸化剤と接触させることを包含する。マッカーシーらの方法に従って酸化されたフィブリルは非一様に酸化されている、即ち、炭素原子はカルボキシルとアルデヒドとケトンとフェノールとその他の炭化水素基との混合物によって置換されている。

フィブリルは硝酸による処理によっても非一様に酸化された。国際出願PCT/US94/10168には、官能基の混合物を含有する酸化フィブリルの生成が開示されている。また、M. S. ホウゲンバード (Hoogenvaad) ら (1994年9月にベルギーのブリュッセルで開催された、不均質触媒の製造のための科学的基礎に関する第6回国際会議で呈示された「新規炭素支持体上に支持された金属触媒 (Metal Catalysts supported on a Novel Carbon Support)」) は、フィブリル支持貴金属の製造にはフィブリル表面を硝酸でまず酸化することが有利であることを見いだしている。酸によるかかる前処理は炭素で支持された貴金属触媒の製造では標準工程であり、その場合、かかる炭素の通常の源が与えられたら、望ましくない材料の表面を清浄にすることはそれを官能化するのと同じように役に立つ。

公開された研究において、マッカーシーとベンディングは (McCarthy and Bending, Polymer Preprints ACS Div. of Polymer Chem. 30 (1) 420 (1990))、表面が様々な酸化された基から構成されたことを実証するために酸化フィブリルの誘導体を製造した。彼らが製造した化合物、フェニルヒドラゾン、ハロ芳香族エステル、タリウム塩、等々は、それらの分析有用性、例えば、鮮やかに着色すること、又は何らかのその他の強度及び容易に同定され区別されるしるしを有することを理由に、選ばれた。これら化合物は単離されなかったし、ここに記載される誘導体と違って實際上意味をもたない。

上記の特許及び特許出願に記載されているように、カーボンフィブリルおよびカーボンフィブリル集合体には多くの用途が見いだされているが、フィブリル表面が官能化されるならば多数の異なった重要な用途が開発されるであろう。均一又は不均一どちらかの官能化は官能化されたフィブリルと多様な基質との相互作用

用が独特の性質を有する物質の独特の組成物を生成することを可能にするし、またフィブリル表面の官能性サイト間の結合に基づいてフィブリル構造体がつくられることを可能にする。

発明の目的

本発明の第一の目的は官能化されているフィブリル、即ち、それと組み合わせられた官能性化学成分を有するようにその表面が均一又は不均一に修飾されている(modified) フィブリル、を提供することである。

本発明の別の関連する目的は酸化させる化学的媒体又はその他の化学的媒体との反応によりその表面が官能化されているフィブリルを提供することである。

本発明の更に別の関連する目的はその表面が化学反応によるか又は化学反応性をそれ自身有する種の物理吸着によるかどちらかによって一様に修飾されているフィブリルを提供することである。

本発明の更に別の目的は表面が例えば酸化によって修飾されており官能基との反応によって更に修飾されるフィブリルを提供することである。

本発明の更に別の関連する目的はフィブリルが様々な基質の中の化学基に化学的に反応できる又は物理的に結合できるように表面が或る範囲の官能基によって修飾されているフィブリルを提供することである。

本発明の更に別の関連する目的はフィブリル上の官能基を或る範囲のリンカー化学作用によって互いに連結させることによってフィブリルの錯体構造を提供することである。

本発明の更に別の関連する目的は、各々の場合に、フィブリルの表面と組み合わせられた官能性成分を提供するように、フィブリル表面を化学的に修飾する方法及びフィブリルの表面に種を物理的に吸着させる方法を提供することである。

本発明の更に別の目的は官能化されているフィブリルを基材とした物質の新規合成物を提供することである。

図面の簡単な説明

図1はブレーン フィブリル、カルボキシ フィブリル、およびPEGで修飾されたフィブリルに対するBSA結合の検定を表すグラフである。

図2は2つの異なる方法により製造したカルボキシフィブリル及びPEG修飾

フィブリルに対するβ-ラクトグロブリン結合の検定を表すグラフである。

図3は第三アミン フィブリル カラムでのウシ血清アルブミン (bovine serum albumin) (BSA)の溶離プロファイルを表すグラフである。

図4は第四アミン フィブリル カラムでのBSAの溶出プロファイルを表すグラフである。

図5はリジン系のデンドリマー性フィブリル (dendrimeric fibril) を製造するための反応順序である。

図6は鉄フタロシアニン修飾フィブリルの、フローセルでの使用を実証するサイクリックボルタモグラムを表すグラフである。

図7はN_ε-(tert-ブトキシカルボニル)-L-リジンの付加によって二官能性フィブリルを製造するための反応順序である。

図8はフィブリルに固定化されたリパーゼを使用しての酪酸エチルの合成の結果を表すグラフである。

図9はアルカリ性ホスファターゼ (AP) とβ-ガラクトシダーゼ (βG) の混合物から、AP阻害剤修飾フィブリルを使用して、APを分離した結果を表すグラフである。

図10はβG修飾フィブリルを使用してAPとβGの混合物からβGを分離した結果を表すグラフである。

発明の詳細な説明

本発明は、広くは式



[式中、

nは整数であり、Lは0. 1 nより小さい数であり、mは0. 5 nより小さい数であり、

Rの各々は同一であって、

SO₃H, COOH, NH₂, OH, R' CHOH, CHO, CN, COCl, ハライド, COSH, SH, COOR', SR', SiR'₃,

Si(OR')₃, R'₃, Si(OR')₂OR', R'', Li, AlR'₂, Hg-X, TlZ₂およびMg-X,

から選ばれ、

y は 3 以下の整数であり、

R' は水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、またはアラルキル、シクロアリール、またはポリ（アルキルエーテル）であり、

R'' はフルオロアルキル、フルオロアリール、フルオロシクロアルキル、フルオロアラルキルまたはシクロアリールであり、

x はハライドであり、そして

Z はカルボキシレートまたはトリフルオロアセテートである]

を有する合成物に関する。

炭素原子、C_n は、実質的に一定の直径を有する実質的に円筒状のグラファイト性ナノチューブの表面炭素である。ナノチューブは、5 より大きい長さ／直径比と、0.5 μより小さい、好ましくは 0.1 μより小さい直径を有するものを包含する。ナノチューブは熱分解付着炭素を実質的に含有しない実質的に円筒状のグラファイト性ナノチューブであることもでき、より好ましくは、フィブリル軸上のグラファイト層の突起がフィブリル直径の少なくとも 2 つ分の距離延びているもの及び／又はその c 軸がその円筒軸に実質的に垂直である円筒状のグラファイトのシートを有するものであることができる。これら組成物は R の各々が同一であることにおいて均一である。

不均一に置換されたナノチューブも製造される。これらは式



（式中、n、L、m、R およびナノチューブ自体は上記定義通りであるが、R の各々が酸素を含有しないこと又は R の各々が酸素含有基である場合には COOH が存在しないことを条件とする）の合成物を包含する。

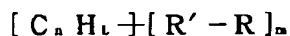
式



（式中、n、L、m、R 及び R' は上記と同じ意味を有し、そして炭素原子は 5 より大きい長さ／直径比を有するフィッシュボーン フィブリルの表面炭素である）を有する官能化されたナノチューブも本発明に包含される。これらは均一に又は不均一に置換されている。好ましくは、ナノチューブは熱的外被を含有

せず、そして0.5 μ より小さい直径を有する。

また、本発明には、式

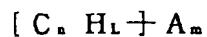


(式中、n、L、m、R' 及びRは上記と同じ意味を有する)を有する官能化されたナノチューブも包含される。炭素原子、 C_n は実質的に一定の直径を有する実質的に円筒状のグラファイト性ナノチューブの表面炭素である。ナノチューブは5より大きい長さ/直径比と、0.5 μ より小さい、好ましくは、0.1 μ より小さい直径を有する。ナノチューブは、熱分解付着炭素を実質的に含有しないナノチューブであつてもよい。より好ましくは、ナノチューブはフィブリル軸上のグラファイト層の突起がフィブリル直径の少なくとも2つ分の距離延びているもの及び/又はそのc軸がその円筒軸に実質的に垂直である円筒状のグラファイトのシートを有するものである。

均一に置換されているナノチューブ及び不均一に置換されているナノチューブどちらにおいても、表面炭素 C_n は反応されている。グラファイト性フィブリルの表面層の中の大抵の炭素原子は、グラファイトにおいてそうであるように、基礎面炭素である。基礎面炭素は化学的攻撃に対して比較的不活性である。欠陥サイトには、例えば、グラファイト平面がフィブリルの周りに完全に延びていないところには、グラファイト平面のエッジ炭素原子と同類の炭素原子が存在する(エッジ及び基礎面の炭素に関する議論については、Urry, Elementary Equilibrium Chemistry of Carbon, Wiley, New York 1989を参照)。

欠陥サイトにおいては、ナノチューブのもっと下の内層のエッジ又は基礎面の炭素が露出しているであろう。用語、表面炭素はナノチューブの最外層の基礎面とエッジの全炭素ばかりでなく、最外層の欠陥サイトにおいて露出しているであろう下層の基礎面及び/又はエッジどちらの炭素をも包含する。エッジ炭素は反応性であり、そして炭素原子価を満たすために或る種のヘテロ原子又は基を含有しなければならない。

上記の置換ナノチューブは有利には更に官能化されてもよい。かかる合成物は式



〔式中、炭素はナノチューブの表面炭素であり、n、Lおよびmは上記の通りであり、

Aの各々は

$OY, NHY, \overset{O}{\parallel} C-OY, \overset{O}{\parallel} C-NR'Y, \overset{O}{\parallel} C-SY, \overset{O}{\parallel} C-Y, -CR'_2-OY, N=Y, -NHCY$ または
 $C=Y,$
 から選ばれ、

Yは、タンパク質、ペプチド、アミノ酸、酵素、抗体、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、抗原、又は酵素基質、酵素阻害剤又は酵素基質の遷移状態類似体の適切な官能基であり、又は

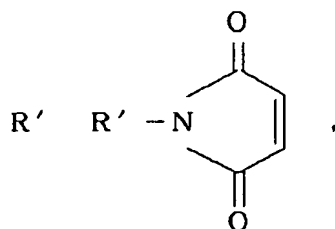
$R'-OH, R'-NR'_2, R'-SH, R'-CHO, R'-CN, R'-X,$

$R'N^+(R')_3X^-, R'SiR'_3, R'Si\leftarrow OR'\rightarrow, R'_3,$

$R'Si\leftarrow O-SiR'_2\rightarrow OR', R'-R'', R'-N-CO,$

$(C_2H_4O)_wH, \leftarrow C_3H_6O\rightarrow_wH, \leftarrow C_2H_4O\rightarrow_w-R',$

$(C_3H_6O)_w-R',$



から選ばれ、

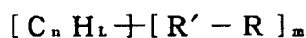
そしてwは1より大きくかつ200より小さい整数である〕の合成物を包含する。

炭素原子、 C_n は、直径が実質的に一定である実質的に円筒状のグラファイト性ナノチューブの表面炭素である。ナノチューブは5より大きい長さ/直径比と、0.1 μ より小さい、好ましくは0.05 μ より小さい直径とを有するものを包含する。ナノチューブはまた、熱分解付着炭素を実質的に含有しない実質的に円

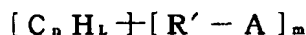
筒状のグラファイト性ナノチューブであることができる。より好ましくは、それ

らはフィブリル軸上のグラファイト層の突起がフィブリル直径の少なくとも2つ分の距離延びていることを特徴とし、及び／又はそれらはそのc軸がその円筒軸に実質的に垂直である円筒状のグラファイトのシートから構成されている。好ましくは、ナノチューブは熱的オーバーコートを含むせず、そして0.5 μより小さい直径を有する。

構造

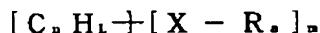


の官能性ナノチューブは、式



を有する合成物を生成するように官能化されてもよい。式中、n、L、m、R' およびAは上記定義通りである。炭素原子、C_nは、実質的に一定の直径を有する実質的に円筒状のグラファイト性ナノチューブの表面炭素である。ナノチューブは5より大きい長さ／直径比と、0.5 μより小さい、好ましくは0.1 μより小さい直径とを有するものを包含する。ナノチューブはまた、熱分解付着炭素を実質的に含有しない実質的に円筒状のグラファイト性ナノチューブであることができる。より好ましくは、それらはフィブリル軸上のグラファイト層の突起がフィブリル直径の少なくとも2つ分の距離延びていることを特徴とし、及び／又はそれらはそのc軸がその円筒軸に実質的に垂直である円筒状のグラファイトのシートから構成されている。好ましくは、ナノチューブは熱的オーバーコートを含むせず、そして0.5 μより小さい直径を有する。

本発明の合成物は或る種の環状化合物が吸着されているところのナノチューブも包含する。これらは、式



(式中、nは整数であり、Lは0.1 nより小さい数であり、mは0.5 nより小さい数であり、aはゼロであるか又は10より小さい数であり、Xは多核芳香族、ポリヘテロ核芳香族またはメタロポリヘテロ核芳香族成分であり、そしてRは上記の通りである)の物質の合成物を包含する。炭素原子、C_nは、実質的に

一定の直径を有する実質的に円筒状のグラファイト性ナノチューブの表面炭素である。ナノチューブは5より大きい長さ／直径比と、0.5 μより小さい、好ま

しくは0.1 μより小さい直径とを有するものを包含する。ナノチューブはまた熱分解付着炭素を実質的に含有しない実質的に円筒状のグラファイト性ナノチューブであることができ、そしてより好ましくは、前記フィブリル軸上のグラファイト層の突起がフィブリル直径の少なくとも2つ分の距離延びていることを特徴とするもの及び／又はそのc軸がその円筒軸に実質的に垂直である円筒状のグラファイトのシートを有するものであることができる。好ましくは、ナノチューブは熱的オーバーコートを含むせず、そして0.5 μより小さい直径を有する。

好ましい環状化合物は、コットンとウィルキンソンのアドバンスド オーガニック ケミストリー (Cotton and Wilkinson, Advanced Organic Chemistry) の76頁に記載されている通りの平面状の大環式化合物である。より好ましい環状化合物はポリフィリンおよびフタロシアニンである。

吸着された環状化合物は官能化されてもよい。かかる組成物は、式



(式中、m、n、L、a、XおよびAは上記定義通りであり、そして炭素は上記の通り実質的に円筒状のグラファイト性ナノチューブの表面炭素である)の化合物を包含する。

上記のように官能化されたカーボンフィブリルはマトリックスの中に組み入れられてもよい。好ましくは、マトリックスは有機重合体(例えば、熱硬化樹脂、例えば、エポキシ、ビスマレイミド、ポリアミド、またはポリエステル樹脂; 熱可塑性樹脂; 反応射出成形樹脂; またはエラストマー、例えば、天然ゴム、スチレン-ブタジエンゴムまたはシス-1,4-ポリブタジエン); 無機重合体(例えば、ポリマー性無機酸化物、例えばガラス)、金属(例えば、鉛または銅)、またはセラミック材料(例えば、ポルトランドセメント)である。フィブリルを組み入れてあるマトリックスからビーズを形成してもよい。代替では、官能化されたフィブリルを官能化されたビーズの外表面に結合させることができる。

特定の理論に拘束するつもりはないが、官能化されたフィブリルは改質された

表面特性が重合体との混和性がより良いので、又は修飾された官能基（特に、ヒドロキシ又はアミン基）が末端基として重合体に直接結合するので、重合体の系の中により良く分散される。この手法では、ポリカーボネート、ポリウレタン、

ポリエステル又はポリアミド／イミドのようなポリマー系はフィブリルに直接結合してフィブリルを改良された付着性をもって分散させることを容易にする。

本発明はまた、カーボン フィブリルと強い酸化剤とを、前記フィブリルの表面を酸化するのに十分な時間接触させ、そして更に前記フィブリルを酸化表面に官能基を付加するのに適する反応体と接触させることによってカーボン フィブリルの表面に官能基を導入する方法にある。本発明の好ましい態様においては、酸化剤は強酸中のアルカリ金属塩素酸塩の溶液からなる。本発明の別の態様においては、アルカリ金属塩素酸塩は塩素酸ナトリウム又は塩素酸カリウムである。好ましい態様においては、使用される強酸は硫酸である。酸化に十分な時間は約 0.5 時間～約 24 時間である。

別の好ましい態様においては、式 $[C_nH_L-\{CH(R')OH\}_m]$ 。

（式中、 n 、 L 、 R' および m は上記定義通りである）を有する組成物は、過酸化ベンゾイルのようなラジカル開始剤の存在下で $R'CH_2OH$ をナノチューブの表面炭素と反応させることによって生成される。

本発明はまた、NHS エステルによって修飾されたナノチューブにタンパク質を、NHS エステルとタンパク質のアミノ基との間に共有結合を形成することによって、結合させる方法にある。

本発明はまた、カーボンフィブリルの表面を酸化するのに十分な時間カーボンフィブリルと酸化剤を接触させ、表面酸化されたカーボンフィブリルをカーボンフィブリルの表面に官能基を付加するのに適する反応体と接触させ、そして表面官能化されたフィブリルをカーボンフィブリルの網状構造を生成するのに有効な架橋剤と更に接触させることを含む、カーボンフィブリルの網状構造を生成する方法にある。好ましい架橋剤はポリオール、ポリアミンまたはポリカルボン酸である。

官能化されたフィブリルはフィブリルの硬質網状構造を製造するのに有効で

ある。酸官能化フィブリルのよく分散された三次元網状構造は、例えば、酸基（インターフィブリル）をポリオールまたはポリアミンによって架橋結合させて硬質網状構造を形成することによって安定化されてもよい。

本発明はまた、本発明の官能化されたフィブリルを連結させることによって形

成された三次元網状構造を包含する。これら複合体は直接結合又は化学成分を含む一つまたはそれ以上のリンカーによって連結された少なくとも2つの官能化されたフィブリルを包含する。これら網状構造は顕著に一様な均等な孔径の多孔性媒体を構成する。それらは吸着剤、触媒支持体及び分離膜として有効である。

これらフィブリル間の隙間は大きさ及び形状どちらにおいても不規則であるけれども、それらは多孔質として考えることができ、そして多孔性媒体を特徴付けるのに使用した方法によって特徴付けられる。かかる網状構造の中の隙間の大きさはフィブリルの分散の濃度とレベル及び架橋剤の濃度と鎖長によってコントロールすることができる。かかる材料は構造化された触媒支持体として作用することができ、そして特定の大きさの分子を排除又は包含するように調節されてもよい。通常の工業用触媒の外に、それらは生体触媒(biocatalyst)のための大きな気孔の多孔性支持体として特殊な用途を有する。

硬質網状構造は分子認識のための生体模倣系における骨格としても役立つことができる。かかる系は米国特許第5, 110, 833号および国際特許公報WO 93/19844号に記載されている。架橋剤及び錯化剤についての適切な選択は特異な分子フレームワークの安定化を可能にする。

ナノチューブを官能化する方法

本発明の均一に官能化されたフィブリルはスルホン化や、脱酸素化されたフィブリル表面への求電子付加や、メタレーションによって直接に製造できる。アーク成長ナノチューブを使用する場合には、官能化に先立って長大な精製を必要とするかも知れない。エバスンらは(Ebbesen et al., Nature 367 519 (1994))、かかる精製のための手順を与えている。

好ましくは、カーボンフィブリルはそれらを官能化剤と接触させる前に加工される。かかる加工はフィブリルを溶剤中に分散させることを包含するであろう。

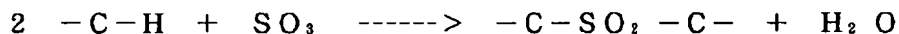
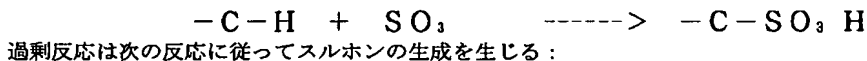
場合によっては、それから、カーボンフィブリルは更なる接触に先立って濾過され乾燥される。

1. スルホン化

背景技術は次の文献に記載されている：March, J.P., Advanced Organic Chemistry, 3rd Ed., Wiley, New York 1985 ; House, H., Modern

Synthetic Reactions, 2nd Ed., Benjamin/Cummings, Menlo Park, CA 1972

。活性化されたC-H（芳香族のC-Hも含まれる）結合はSO₃、を20%まで含有する濃硫酸の溶液である発煙硝酸(oleum)を使用してスルホン化することができる。通常の方法は発煙硫酸を使用してT約80℃における液相を通してである：しかしながら、活性化されたC-H結合は不活性な非プロトン性溶媒中のSO₃又は蒸気相中のSO₃を使用してスルホン化することも可能である。反応は次の通りである：



実施例 1

硫酸の使用によるC-H結合の活性化

反応は気相中と溶液中で行い、結果に有意差を生じなかった。蒸気相反応はリンドバーグ炉によって加熱された水平石英管反応器の中で行った。気体流入／流出管を装着した、濃硫酸中にSO₃20%を含有する多ロフラスコを、SO₃源として使用した。

磁製ボートの中のフィブリル（BNまたはCC）の秤量試料を、気体導入口を装備した1インチ管の中に入れた；流出口は濃硫酸バブラートラップ（bubler trap）に接続した。反応器全体にアルゴンを20分間フラッシュして全空気を除き、そして試料を300℃に1時間加熱して残留水分を除去した。乾燥後、アルゴン下で温度を反応温度に調節した。

所定温度が安定化されたら、SO₃源を反応器管に接続し、そしてアルゴン流

を使用して SO_3 蒸気を石英管反応器の中に送った。反応は所定温度で所定時間行い、その後で反応器をアルゴン流の下で冷却した。それからフィブリルを5" Hg真空で90℃で乾燥して乾燥重量利得を得た。スルホン酸($-\text{SO}_3\text{H}$)含有量は0.100Nの NaOH との反応および終点としてpH6.0を使用して0.100Nの HCl による逆滴定によって求めた。

液相反応は温度計/温度コントローラー及び磁気攪拌機を装着した100ccの多ロフラスコの中で SO_3 20%を含有する濃硫酸中で行った。濃硫酸(50)

の中のフィブリルスラリーをフラスコに入れた。発煙硫酸溶液(20cc)を反応器に加える前に約60℃に予め加熱した。反応後、酸スラリーを砕いた氷の上に注ぎ、そして直ちに1リットルの脱イオン水で希釈した。固体を濾過し、そして洗浄排出液のpHが変化しなくなる迄、脱イオン水で完全に洗浄した。フィブリルを5" Hg真空で100℃で乾燥した。濾過での移し替えによる損失のせいで、厳正な重量増加は観察されなかった。結果は表1に列挙されている。

表1
反応のまとめ

実施例	実験 #	反応	試料 重量wt. g	フィブリル のタイプ	T° C	時間	乾燥重量 増加	SO_3H 濃度 meq/g
1A	118-60A	気相	0.20	CY	110	15 m	9.3%	0.50
1B	118-61A	気相	0.20	BN	100	30 m	8.5%	0.31
1C	118-61B	気相	0.20	BN	65	15 m	4.2%	0.45
1D	118-56A	液相	1.2	CY	50	10 m		0.33
1E	118-56B	液相	1.0	CY	25	20 m		0.40

蒸気相または液相での反応によるスルホン酸含量に有意差はなかった。温度効果はあった。より高い温度の反応(蒸気相)はより高い量のスルホンを与える。118-61Bでは、4.2%の重量増加はスルホン酸含量と一致した(理論値は0.51meq/gであった)。実験60Aおよび61Aはスルホン酸含量によるだけと説明するには高すぎる重量増加を有した。従って、かなりの量のスルホンも製造されたと推定された。

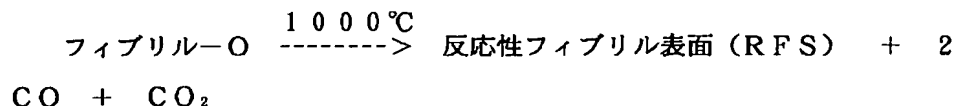
2. 酸化物を含有しないフィブリル表面への付加

背景技術は次の文献に記載されている：Urry, G., Elementary Equilibrium Chemistry of Carbon, Wiley, New York 1989。

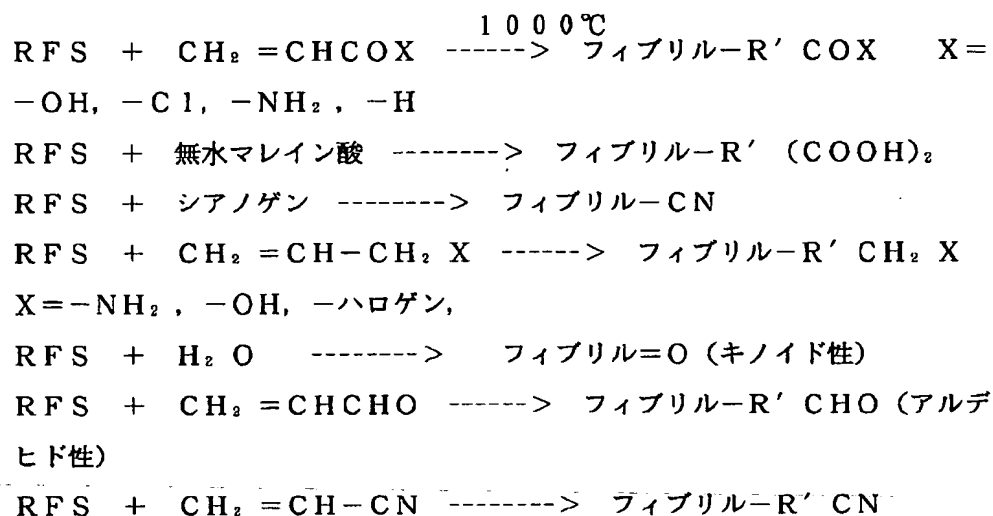
フィブリルの中の表面炭素はグラファイトのように挙動する、すなわち、それらは基礎面とエッジ両方の炭素を含有する六方晶シート(hexagonal sheet)の状態で配列されている。基礎面炭素は化学的攻撃に比較的不活性であるが、エッジ炭素は反応性であり、そして炭素原子価を満たすために或る種のヘテロ原子また

は基を含有しなければならない。フィブリルは、基本的にエッジ炭素であり且つヘテロ原子または基を含有するところの表面欠陥サイトも有している。

フィブリルの表面炭素に結合した最も普通のヘテロ原子は次のものである：水素、製造中の主な気体成分；酸素、その高い反応性のせい及びその痕跡を回避するのが非常に難しいせい；及び H_2O 、それは触媒のせいであるが常に存在する。真空中での約 $1000^{\circ}C$ における熱分解はメカニズムが未知であるが化学量論量がわかっている複雑な反応で表面を脱酸素化するであろう。生成物は2：1比のCOと CO_2 である。得られるフィブリル表面は C_1-C_4 配列における基を含有しており、それら基は活性化されたオレフィンに対して非常に反応性である。表面は真空中で又は不活性気体の存在下で安定であるが、反応性気体に曝されるまではその高い反応性を維持する。従って、フィブリルは真空中で又は不活性雰囲気下で約 $1000^{\circ}C$ で熱分解されること、これら同一条件下で冷却されること、そしてより低い温度で適切な分子と反応して安定な官能基を与えることができる。代表的な例は次の通りである：



引き続き：



但しR' は炭化水素基（アルキル、シクロアルキル、等）

実施例2

アクリル酸と無酸化物フィブリル表面との反応による

官能化されたフィブリルの製造

磁製ボートの中の1gのBNフィブリルを、熱電対を装着した水平の1"石英管の中に入れ、そしてリンドバーク管炉の中に置いた。端部に気体流入口／流出口を装着した。管を乾燥脱酸素アルゴンで10分間パージした後に、炉の温度を300℃に上げて30分維持した。その後で、アルゴンの連続流の下で、温度を100℃増分で1000℃まで上げ、そして16時間維持した。その後で、管をアルゴン流の下で室温（RT）に冷却した。それから、アルゴンの流れをそらして50℃の純粋な精製アクリル酸を含有し気体流入口／流出口を装着した多口フラスコを通して行った。アクリル酸／アルゴン蒸気の流れはRTで6時間継続した。その後、残留した未反応アクリル酸の除去を、まずアルゴンによるパージによって、それから<5"真空で100℃での真空乾燥によって、行った。カルボン酸含量は、過剰の0.100NのNaOHとの反応とpH7.5の終点まで0.100NのHClで逆滴定することによって測定した。

実施例3

アクリル酸と無酸化物フィブリル表面との反応による

官能化されたフィブリルの製造

手順は熱分解と冷却を 10^{-4} トール真空で行ったこと以外は上記手順と同じように繰り返した。精製アクリル酸蒸気は上記手順におけるようにアルゴンで希釈した。

実施例 4

マレイン酸と無酸化物フィブリル表面との反応による

官能化されたフィブリルの製造

手順はRTにおける反応体が精製した無水マレイン酸 (MAN) であり、それがアルゴン気体を 80°C の熔融MAN浴に通すことによって反応器に供給されたこと以外は実施例 2 と同じように繰り返した。

実施例 5

塩化アクリロイルと無酸化物フィブリル表面との反応による

官能化されたフィブリルの製造

手順はRTにおける反応体が精製した塩化アクリロイルであり、それがアルゴン気体を 25°C の純粋な塩化アクリロイルの上に通すことによって反応器に供給されたこと以外は実施例 2 と同じように繰り返した。酸塩化物の含量は、過剰の 0.100N の NaOH との反応と 0.100N の HCl による逆滴定によって測定した。

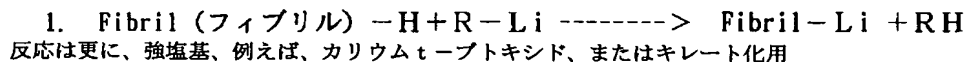
真空中でのフィブリルの熱分解はフィブリル表面を脱酸素化した。TGA装置では、真空中での又は精製Ar流の中での 1000°C における熱分解はBNフィブリルの3つの試料について3%の平均重量損失を与えた。ガスクロマトグラフ分析はそれぞれ約2:1の比の CO と CO_2 だけを検出した。得られた表面は非常に反応性であり、そして活性化オレフィン、例えば、アクリル酸、塩化アクリロイル、アクリルアミド、アクロレイン、無水マレイン酸、アリルアミン、アリルアルコールまたはハロゲン化アリルは室温でさえ反応して活性化オレフィンに結合したその官能基だけを含有する清浄な生成物を生成するであろう。従って、カルボン酸だけを含有する表面はアクリル酸または無水マレインとの反応によ

て入手可能であり；酸塩化物だけを含有する表面は塩化アクリロイルとの反応によって；アルデヒドだけを含有する表面はアクロレインから；ヒドロキシルだけを含有する表面はアリルアルコールから；アミンだけを含有する表面はアリルアミンから；そしてハライドだけを含有する表面はハロゲン化アリルから、入手可能である。

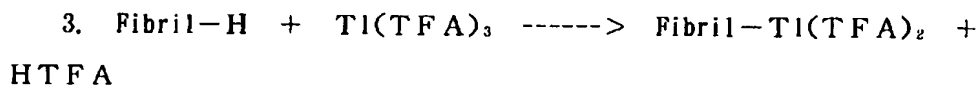
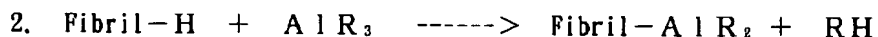
3. メタレーション

背景技術は次の文献に記載されている：March, Advanced Organic Chemistry, 3rd ed., p 545。

芳香族C-H結合は様々な有機金属試薬によってメタレートされて炭素-金属結合(C-M)を生成することができる。Mは通常、Li、Be、Mg、Al、またはTlである；しかしながら、その他の金属も使用できる。最も簡単な反応は活性化された芳香族の中の水素の直接置換によるものである：

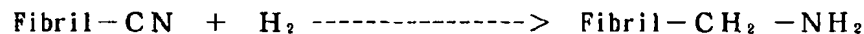
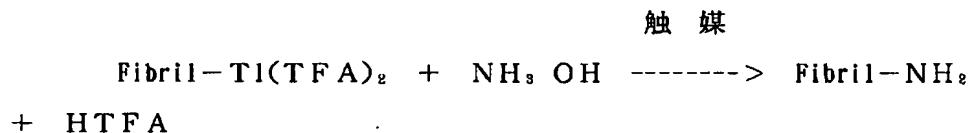
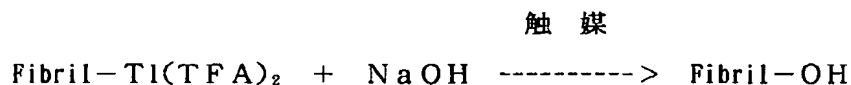
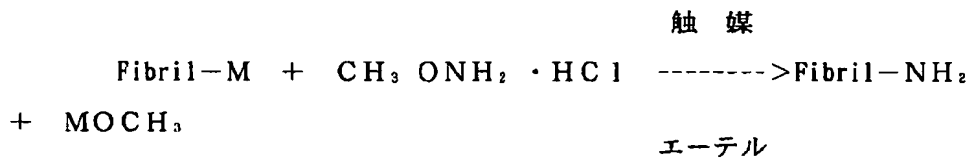
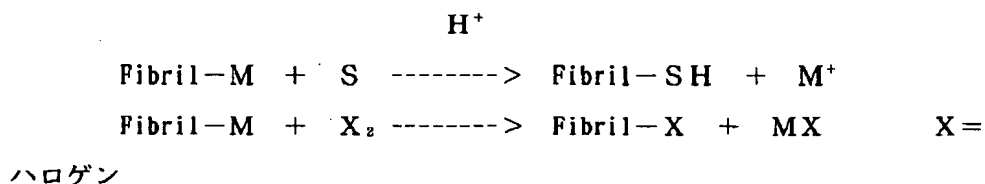
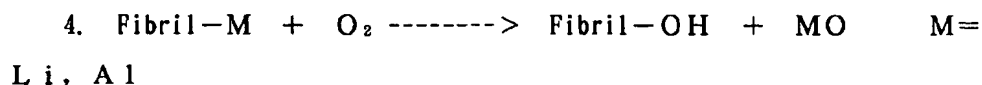


ジアミンを必要とするかも知れない。非プロトン性溶媒は必要である（パラフィン、ベンゼン）。



TFAはトリフルオロアセテート。HTFAはトリフルオロ酢酸。

メタレート誘導体は第一の単独官能化されたフィブリルの例である。しかし、それらを更に反応させて別の第一の単独官能化されたフィブリルを与えることができる。いくつかの反応は中間体を単離せずに同じ装置で順次実施できる。



実施例6

フィブリル-Liの製造

1 gのCCフィブリルを磁製ボートに入れ、そしてリンドバーク管炉の中に閉じ込められている1"石英管反応器の中に挿入した。管の端部は気体流入口／流出口を装着された。H₂の連続流の下で、フィブリルを700℃に2時間加熱して全ての表面の酸素化物をC-H結合に転化した。それから、反応器をH₂流の下でRTに冷却した。

水素化されたフィブリルを、脱酸素化した乾燥ヘプタンと共に (Li Al H₄と共に)、1リットルの多口丸底フラスコに移した。このフラスコには、全ての空気を除去し不活性雰囲気に維持するための精製アルゴンのパージシステム、冷却器、磁気攪拌機およびゴム隔膜（それを通してシリングで液体を加えることができ

る)が装備されていた。アルゴン雰囲気下で、ヘプタン中に5ミリモルのブチルリチウムを含有する2%溶液をシリンジによって加え、そしてこのスラリを穏やかな還流下で4時間攪拌した。その後、フィブリルをアルゴン雰囲気グローブボックスの中で重力濾過によって分離し、そしてフィルター上で脱酸素化乾燥ヘプタンによって数回洗浄した。フィブリルを活栓付きの50cc丸底フラスコに移し、そして 10^{-4} トル真空下で50℃で乾燥した。リチウム含量は、フィブリルの試料をDI水(脱イオン水)中で過剰の0.100NのHClと反応させ0.100NのNaOHでpH5.0の終点まで逆滴定することによって測定した。

実施例7

フィブリル-Tl(TFA)₂の製造

1gのCCフィブリルを実施例5のように水素化し、そして多口フラスコの中に、乾燥アルゴンによる繰り返しパージによってガス抜きされているHTFAと共に装填した。HTFA中の5ミリモルTl(TFA)₂の5%溶液をゴム隔膜からフラスコに加え、そしてこのスラリを穏やかな還流下で6時間攪拌した。反応後に、フィブリルを実施例1のように集め乾燥した。

実施例8

フィブリル-OHの製造

(OH官能化だけを含有する酸素化誘導体)

実施例6で製造したリチウム化フィブリルの0.5gを脱酸素化乾燥ヘプタンと共に、アルゴン雰囲気グローブバッグの中で、活栓と磁気攪拌棒を付けた50cc一口フラスコに移した。フラスコをグローブバックから取り出し、そして磁気攪拌機で攪拌した。それから、活栓を大気に対して開き、そしてスラリを24時間攪拌した。その後で、フィブリルを濾過によって分離し、そしてMeOH水溶液で洗浄し、そして5"真空で50℃で乾燥した。OH基の濃度は、ジオキサン中の無水酢酸の標準化溶液(0.252M)と80℃で反応させてOH基を酢酸エステルに転化することによって求めた。そうした場合、反応した酸無水物1モル当たり1当量の酢酸が放出される。全体の酸含量、遊離酢酸と未反応無水酢酸、は0.100NのNaOHでpH7.5の終点まで滴定することによって測定

した。

実施例 9

フィブリル-NH₂の製造

1 g のタリウム化フィブリルを実施例 7 のように製造した。フィブリルをジオキサンの中にスラリー化し、そしてジオキサンに溶解した 0.5 g のトリフェニルホスフィンを加えた。スラリーを 50℃ で数分攪拌した後に、50℃ のアンモニア気体を 30 分間加えた。それから、フィブリルを濾過によって分離し、ジオキサン中で、それから DI 水中で洗浄し、そして 5" 真空で 80℃ で乾燥した。アミン濃度は、過剰の無水酢酸と反応させ遊離酢酸と未反応無水酢酸を 0.100 N の NaOH で逆滴定することによって測定した。

4. 誘導化された多核芳香族、ポリヘテロ核芳香族

及び平面大環式の化合物

フィブリルのグラファイトの表面は芳香族化合物の物理的吸着を可能にする。吸引はファンデルワールス力による。この力は多環ヘテロ核芳香族化合物とグラファイト表面の基礎面炭素との間にかなりある。脱着は競合表面吸着が可能である条件下で又は吸着質が高い溶解度を有する条件下で起こるであろう。

例えば、フィブリルはフタロシアニン誘導体の吸着によって官能化されることができる。それから、これらフタロシアニン誘導体フィブリルはタンパク質の固体支持体として使用できる。異なる化学基をフィブリル表面に導入することは単

にフタロシアニンの異なる誘導体を選択することによって可能である。

タンパク質を固定化するためにフタロシアニン誘導体フィブリルを使用することは従来のタンパク質固定化方法よりも有意な利点を有する。特に、それは共有結合修飾よりも簡単である。加えて、フタロシアニン誘導体フィブリルは高い表面積を有し、そして広範囲の温度及び pH にわたってどの種類の溶媒中でも安定である。

実施例 10

フィブリル上へのポリフィリン及びフタロシアニンの吸着

フィブリル上に物理吸着するのに好ましい化合物は、グラファイトまたはカー

ボンブラックに強く吸着することが知られている誘導化されたポリフィリンまたはフタロシアニンである。幾つかの化合物が入手可能であり、例えば、テトラカルボン酸ポリフィリン、コバルト (II) フタロシアニンまたはニリチウムフタロシアニン。後者の2つはカルボン酸形態に誘導化されることができる。

ニリチウムフタロシアニン

一般に、大抵の金属 (特に多価) 錯体によってフタロシアニン (Pc) から2つの Li^+ イオンが放逐される。従って、不安定でない配位子と結合した金属イオンによる Li^+ イオンの置換はフィブリル表面上に安定な官能基を置く方法である。ほぼ全部の遷移金属錯体はPcから Li^+ を放逐して安定な、非不安定性のキレートを生成するであろう。それから、要点はこの金属に適する配位子と結合させることである。

コバルト (II) フタロシアニン

このためにはコバルト (II) 錯体が特に適する。 Co^{++} イオンは2つの Li^+ イオンの代わりに置換できる。それから、 Co^{++} イオンは、垂下 (pendant) カルボン酸基を有するピリジン環を含有しているニコチン酸のような配位子に配位することができ、それはピリジン基に優先的に結合することが知られている。過剰のニコチン酸の存在下では、 $\text{Co}(\text{II})\text{Pc}$ は電気化学的に酸化されて $\text{Co}(\text{III})\text{Pc}$ になることができ、ニコチン酸のピリジン成分と不安定でない錯体を形成する。従って、ニコチン酸配位子の遊離カルボン酸基はフィブリル表面にしっかりと結合している。

その他の適する配位子はアミノピリジン又はエチレンジアミン (垂下 NH_2)、メルカプトピリジン (SH)、又は、一方の端にアミノ又はピリジルー成分どちらかをそして他端に何らかの望ましい機能を含有するその他の多官能性配位子である。

ポリフィリンまたはフタロシアニンのローディング容量 (loading capacity) は、それらを漸増添加したときの溶液の脱色によって測定できる。溶液の深い色 (MeOH中のテトラカルボン酸ポリフィリンでは深いピンク色、アセトンまたはピリジン中の $\text{Co}(\text{II})$ またはニリチウムフタロシアニンでは暗い青-緑色)

は、分子がフィブリルのブラック表面への吸着によって除去されたときには変化する。

ローディング容量はこの方法によって推定し、そして誘導体のフットプリントはその近似測定（約140平方オングストローム）から算出した。平均では、フィブリルの表面積は $250\text{ m}^2/\text{g}$ であり、最大ローディングは約0.3ミリモル/gであろう。

テトラカルボン酸ポルフィリンを滴定によって分析した。吸着の保全性は周囲温度と高温における水性系での色放出によって試験した。

フィブリルスラリを最初に混合（ワーリング ブレンダー (Waring blender)）し、そしてローディングの間中攪拌した。色がもはや変化しなくなった後にスラリの一部を超音波処理したが、効果がなかった。

ローディング後、実験169-11-12、-14及び-19-1（表II参照）は同じ溶媒中で洗浄して吸蔵顔料を除去した。全てが洗浄流出液中に連続して弱い色を示したので、正確に飽和点を求めることが難しかった。実験168-18及び-19-2はローディングのための計算した量の顔料を使用し、そしてローディング後に非常に軽く洗浄した。

テトラカルボン酸ポルフィリン（アセトンから）及びC₆フタロシアニン（ピリジンから）は更に特徴表示するためにフィブリル上にローディングされた（それぞれ、実験169-18及び-19-2）。

テトラカルボン酸ポルフィリンの分析

過剰塩基の添加（pH 11~12）は滴定するスラリに直ちにピンク色の着

色を生じさせた。これは滴定を妨害しなかったが、高いpHではポルフィリンが脱着されることを示していた。カルボン酸濃度は終点としてpH 7.5を使用する過剰NaOHの逆滴定によって測定した。滴定は酸1g当り1.10 meqのローディングを与え、それはポルフィリン1g当り0.275 meqに等しかった。

。

コバルトまたはニリチウムフタロシアニンの分析

これらの吸着質の濃度は脱色実験だけから推定した。青-緑の色が30分後に

退色しなかった場合の点を飽和点とした。多数の、置換された多核芳香族又はポリヘテロ核芳香族の化合物がフィブリル表面に吸着された。付着力のためには、芳香族環の数は環／垂下官能基当り2つより多くすべきである。従って、3つの縮合環を含有する置換アントラセンやフェナントレン等、又は4つ以上の縮合環を含有する多官能性誘導体はポルフィリン又はフタロシアニン誘導体の代わりに使用できる。同様に、置換された芳香族ヘテロ環式化合物例えばキノリン、又は4つ以上の環を含有する多置換されたヘテロ芳香族化合物を使用できる。

表IIには、3種類のポルフィリン／フタロシアニン誘導体についてのローディング実験の結果をまとめてある。

表II
吸着実験のまとめ

実施例	実験 #	吸着質	フィブリル		ローディング		meq/g
			重量(g)	溶媒	g/g	形態	
10A	169-11	TCAPorph	19.6mg	Acet	0.18g/g	酸	na
10B	169-12	TCAPorph	33.3mg	H ₂ O	0.11	Na塩	na
10C	169-14	DiLiPhth	119.0mg	Acet	0.170	Li	na
10D	169-19-1	CoPhth	250.0mg	Pyr	0.187	Co	0.335(cal)
10E	169-18	TCAPorph	1.00g	Acet	0.205	酸	1.10(T)
10F	169-19-2	CoPhth	1.40g	Pyr	0.172	Co	0.303(cal)

TCAPorphは、テトラカルボン酸ポルフィリンである。

(cal)は、計算値である。

DiLiPhthは、ニリチウムフタロシアニンである。

CoPhthは、コバルト (II) フタロシアニンである。

(T)は、滴定である。

次の実施例11および12は2種類の異なるフタロシアニン誘導体をカーボンナノチューブ上に吸着させる方法を説明する。

実施例11

ニッケル (II) フタロシアニンテトラスルホン酸の吸着
によって官能化されたフィブリル

2mgのニッケル (II) フタロシアニンテトラスルホン酸 (四ナトリウム塩) を 1ミリリットルの dH_2O の中で 4. 2mgのブレーン フィブリンと混合した。この混合物を超音波で 30分処理し、そして室温で一晩回転させた。

フィブリンを 1ミリリットルの dH_2O で 3回、1ミリリットルの $MeOH$ で 3回、そして 1ミリリットルの CH_2Cl_2 で 3回洗浄し、そして真空下で乾燥した。

これらのフタロシアニン誘導体フィブリンにサーモリシンを吸着によって固定化した。0. 5mgのフィブリンを 250マイクロリットルの dH_2O の中に懸濁させ、そして超音波で 20分処理した。上澄み液を捨て、そしてフィブリンを 250マイクロリットルの 0. 05Mのトリス (Tris) ($pH=8. 0$) の中に懸濁させ、そして同じ緩衝液中でつくった 0. 6mMのサーモリシン (thermolysin) 溶液の 250マイクロリットルと混合した。この混合物を室温で 2時間回転させ、そして $4^{\circ}C$ で一晩貯蔵した。それから、フィブリンを 1ミリリットルの 25mMのトリス ($pH=8$) で 3回洗浄し、そして 40mMのトリスと 10mMの $CaCl_2$ を含有する $pH7. 5$ の緩衝液の 250マイクロリットルの中に懸濁させた。

これらフィブリン上のサーモリシンの量はフィブリンの酵素活性度を測定することで求めた。サーモリシンは基質 FAGLA (N-(3-[2-フリル] アクリロニトリル) -グリロイアミド) と反応することができ、そして 345nmで

$-310M^{-1}cm^{-1}$ の吸光係数をもつ吸光度低下を起こす化合物を生成する。この反応のためのアッセイ緩衝条件は $pH7. 5$ の、40mMのトリス、10mMの $CaCl_2$ および 1. 75Mの $NaCl$ であった。反応は 1ミリリットルの浅鉢の中で、5マイクロリットルの FAGLA ストック溶液 (dH_2O 中の 30%DMF 中の 25. 5mM) を 1ミリリットルのアッセイ緩衝液中の 10 μg のサーモリシン フィブリンと混合することによって行った。345nmにおける吸光度低下を 10分間にわたる時間走査によってモニターした。それから、酵素活性度 ($\mu M/分$) は $-310M^{-1}cm^{-1}$ の吸光係数を使用して初期勾配から算出した。フィブリン 1g 当りの活性サーモリシンの量は 0. 61 μ モルであった。

実施例 12

1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25-オクタブトキシ

— 29H, 31H—フタロシアニンの吸着
によって官能化されたフィブリン

1ミリリットルの CHCl_3 の中で、3mgの1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25—オクタブトキシ—29H, 31H—フタロシアニンと、5.3mgのプレーン フィブリンを混合した。この混合物を超音波で50分処理し、そして室温で一晩回転させた。

フィブリンを1ミリリットルの CH_2Cl_2 で3回洗浄し、そして真空下で乾燥した。

これらフタロシアニン誘導体フィブリンの上にサーモリシンを実施例34の方法に従って吸着によって固定化した。フィブリン1g当りの活性サーモリシンの量は0.7 μ molであった。

実施例13

サーモリシンがその上に固定化されている
フタロシアニン誘導体フィブリンを使用する
アスパルターム前駆体の合成

サーモリシンがその上に固定化されているフタロシアニン誘導体フィブリンは、人工甘味料アスパルタームの前駆体の合成を触媒するために使用できる。反応は10 μ Mのフィブリン固定化サーモリシンを有する酢酸エチルの中で80mMのL

—Z—Aspと220mMのL—Phe oMeを混合することによって行った。生成物、Z—Asp—Phe oMeは収量を測定するためにHPLCによって監視した。

5. 塩素酸塩または硝酸による酸化

濃硫酸中の塩素酸カリウムや、硝酸のような、強い酸化剤によるグラファイトの酸化に関する文献としては、次のものが挙げられる：R.N. Smith, Quarterly Review 13, 287 (1959) ; M.J.D. Low, Chem. Rev. 60, 267 (1960) 。一般に、エッジ炭素（欠陥サイトも包含する）は攻撃されてカルボン酸、フェノール及びその他の酸素化された基の混合物を与える。メカニズムはラ

ジカル反応を含む複雑なものである。

実施例 1 4

塩素酸塩を使用しての

カルボン酸で官能化されたフィブリルの製造

濃硫酸の中にCCフィブリルの試料をへらで混ぜることによってスラリ化し、それから気体流入口／流出口及び頭上攪拌機を装着し反応フラスコに移した。攪拌しながら、そしてゆっくりしたアルゴン流の下で、 NaClO_3 の装填を実験の時間中にRTで数回に分けて行った。実験の全過程に塩素蒸気が発生するので反応器から塩素蒸気をスウィープして NaOH 水溶液トラップに送り込んだ。実験の最後に、砕いた氷の上にフィブリルスラリを注ぎ、そして減圧濾過した。それから、濾過ケーキをソックスレー円筒濾紙に移し、そしてソックスレー抽出器でDI水によって洗浄し、数時間毎に新鮮な水に交換した。新鮮DI水を加えたときにフィブリルの試料が水のpHを変化させなくなるまで洗浄を続けた。それから、フィブリルを濾過によって分離し、そして5”真空で100℃で一晩乾燥した。

カルボン酸含量は、サンプルを過剰の0.100Nの NaOH と反応させ、そして0.100Nの HCl によってpH7.5の終点まで逆滴定することによって、測定した。結果は表に列挙した。

表III

直接酸化実験のまとめ

Rec	酸,	成分, g					
Ex.	RUN #	フィブリン	NaClO ₃	cc	H ₂ SO ₄	時間(h)	洗浄 pH 重量
		meq/g					
11A	168-30	10.0	8.68	450	24	5.7	
	10.0	0.78					
11B	168-36	12.0	13.9	600	24	5.9	
	13.7	0.75					

実施例 1-5-

硝酸を使用しての

カルボン酸で官能化されたフィブリンの製造

フィブリンの秤量した試料を、頭上攪拌機と水コンデンサーを装着した丸底で多口のくぼみ付きの反応フラスコの中で、適切な強さの硝酸によってスラリー化した。絶えず攪拌しながら、温度を調節し、そして反応を特定された時間行った。酸の強度に関係なく、温度が70℃を越えた後に短時間の間、褐色の煙が遊離した。反応後、砕いた氷の上にスラリーを注ぎ、そしてDI水で希釈した。スラリーを濾過し、そして過剰の酸をソックスレー抽出器で洗浄することによって除去するのであるが、溜めを数時間毎に新鮮DI水で置き換えることを、スラリー化された試料がDI水からのPhに変化を与えなくなるまで行った。フィブリンを5" 真空で100℃で一晩乾燥した。フィブリンの一部の秤量を標準の0.100NのNaOHと反応させ、そして0.100NのHClによる逆滴定によってカルボン酸含量を測定した。表面酸素含量はXPSによって測定した。水への分散性は0.1重量%において、ワーリング ブレンダーの中で最高2分混合することによって試験した。結果は表4にまとめた。

表IV

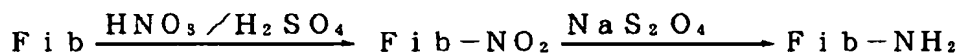
直接酸化実験のまとめ

分散性	成分		COOH	ESCA,	at%				
	g	cc							
Bx.	フィブリル	酸	酸濃度	温度℃	時間	重量損失	meq/g	C	O
<u>H₂O</u>									
12A	1(BN)	300	70%	室温	24 hr	0	<0.1	98	2
P									
12B	1(BN)	300	15	還流	48	<5%	<0.1	分析せず	
P									
12C	20(BN)	1.0 1	70	還流	7	25%	0.8	分析せず	
G									
12D	48(BN)	1.0 1	70	還流	7	20%	0.9	分析せず	
G									

P=悪い G=良い

6. フィブリルのアミノ官能化

アミノ基をグラファイト性フィブリルに直接導入することは、下記の式に従って、フィブリルを硝酸と硫酸で処理して硝酸化フィブリルを得てから、この硝酸化された形態をジチオン酸ナトリウムのような還元剤で還元してアミノ官能化されたフィブリルを得ることによって、可能である：



得られたフィブリルは、タンパク質（例えば、酵素および抗体）の固定化や、アフィニティ及びイオン交換クロマトグラフィーを包含する多数の有用性を有する。

実施例 16

硝酸を使用しての

アミノ官能化されたフィブリルの製造

水 (1.6 ml) と酢酸 (0.8 ml) の中のフィブリル (70 mg) の冷却懸濁物 (0℃) に、硝酸 (0.4 ml) を滴加した。この反応混合物を 0℃ で 15 分攪拌し、室温で更に 1 時間攪拌した。硫酸 (0.4 ml) と塩素酸 (0.4 ml) の混合物をゆっくり加え、室温で 1 時間攪拌した。反応を停止し遠心分離した。水性層を除去し、そしてフィブリルを水で洗浄 (×5) した。残留物を 10% 水酸化ナトリウムで処理 (×3) し、そして水で洗浄 (×5) して硝酸化フィブリルを完成した。

水 (3 ml) と水酸化アンモニウム (2 ml) の中の硝酸化フィブリルの懸濁物に、0℃ でジチオン酸ナトリウム (200 mg) を 3 回にわけて加えた。この反応混合物を室温で 5 分攪拌し、そして 100℃ で 1 時間攪拌した。反応を停止し、0℃ に冷却し、そして pH を酢酸 (pH 4) で調節した。室温で一晩放置した後、懸濁物を濾過し、水 (×10)、メタノール (×5) で洗浄し、そして真空乾燥してアミノフィブリルを与えた。

このアミノ官能化されたフィブリルを試験するために、フィブリルにホースラディッシュ (horseradish) ペルオキシダーゼをカップリングさせた。それから、この HRP をカップリングされたアミノフィブリルを大規模に透析した。透析の後に、フィブリルをその翌週の間に 15 回洗浄した。この酵素で修飾されたフィブリルは次の通り検定された：



結果は Fib-NH₂ に結合された HRP が 1 週間にわたって保持される良好な酵素活性度を示したことを表している。

7. ラジカル開始剤を使用するの末端アルコールの結合

カーボンナノチューブの高度の安定性は、過酷な環境でを使用することを可能にする一方で、更なる修飾のために活性化することを難しくさせている。従来の方は過酷な酸化剤と酸の使用を伴っていた。驚くべきことに、過酸化ベンゾイル (BPO) のようなラジカル開始剤を使用してカーボンナノチューブに末端アルコールを結合できることが判明した。式 RCH_2OH (式中、R は水素、ア

ルキル、アリール、シクロアルキル、アラルキル、シクロアリール、またはポリ（アルキルエーテル）である）を有するアルコールに、カーボンナノチューブをラジカル開始剤と共に加え、そして約60℃～約90℃に加熱する。好ましいアルコールにはエタノールおよびメタノールが含まれる。ラジカル開始剤の全部が分解するのに十分な時間が経過したときに、反応混合物を濾過し、そしてカーボンナノチューブ材料を洗浄し乾燥して、式 $\text{ナノチューブ}-\text{CH}(\text{R})\text{OH}$ の修飾されたナノチューブを生じる。この方法は二官能性アルコールを結合させるのにも使用できる。これは一端がカーボンナノチューブに連結すること及び他端が別の材料を表面に間接的に連結するのに使用されることを可能にする。

実施例 17

過酸化ベンゾイルを使用しての

アルコール官能化されたナノチューブの製造

0.277 g のカーボンナノチューブを MeOH の中にプローブ超音波装置を使用して分散させた。0.126 g の BPO を室温に加え、そして温度を 60℃ に上げ、そして追加の 0.128 g の BPO を加えた。60℃ で更に 45 分の後に、0.129 g の最終 BPO 添加を行い、そして混合物を 60℃ に更に 30 分保った。生成物を膜上で濾過し、そして MeOH と EtOH で数回洗浄し、そして 90℃ のオープンで乾燥した。収量は 0.285 g であった。ESCA 分析は 2.5 原子% の酸素含量を示し、これに比べて、BPO 無しで MeOH の中で還流した対照試料では 0.74 原子% であった。

実施例 18

過酸化ベンゾイルを使用しての

ポリ（エチレングリコール）によるカーボンナノチューブの修飾

0.1 g のカーボンナノチューブと、0.5 g の BPO と、10 g のポリ（エチレングリコール）（平均分子量 1000）（PEG-1000）を室温で混ぜ合わせた。この混合物を 90℃ に加熱して PEG を熔融し、そして 90℃ で反応させるために一晩置いた。混合物全体を濾過し、そして洗浄して過剰 PEG を除去し、それから乾燥した。得られた材料はそのまま使用することもできるし、又は PEG の自由端に関心のある材料を結合させることによって更に修飾されるこ

とも可能である。

実施例 19

PEGで修飾されたカーボンナノチューブの 非特異結合を低下させるための用途

高い表面積のカーボン材料への非特異結合は至る所にある。カーボンナノチューブにPEGのような親水性オリゴマーを結合させると非特異結合を低下させることができることが判明した。また、ナノチューブの表面にPEGのような鎖状分子の一端を結合させることによって、自由端は関心のある他の材料の結合のために使用できる官能基を含有することができ、それでいて非特異結合を低下させるためにPEG（又は他の材料）層の性質をなお維持する、ことも判明した。

PEG修飾フィブリルによるウシ血清アルブミンの非特異結合の低下

各々の1.0mgを10mlの緩衝液の中に超音波処理によって分散させることによって、未修飾フィブリル、塩素酸塩酸化フィブリル、及びPEG修飾フィブリルの、pH7.0の50mMの磷酸カリウム緩衝液中の0.1mg/mlのストック分散物を製造した。各々の一連の2倍希釈物の2mlを、9つのポリプロピレン管の各々に入れた。同じ緩衝液中のウシ血清アルブミン（BSA）の0.2mg/mlの溶液の100 μ lを各管に、及び3つの緩衝液ブランクに加えた。タンパク質を含有しない3つの緩衝液の管もつくった。どの管もボルテックスミキサーで混合し、そして10分毎に30秒ボルテックスしながら30分間インキュベートした。全ての管を遠心器にかけてフィブリルを分離し、そして上澄みの1mlのアリコート新しい管に移し、そしてマイクロ(Micro)BCAプロテインアッセイ（ピアス（Pierce））を使用して全タンパク質含量について分析した。上澄みの中に残っているタンパク質のレベルはフィブリルに非特異に結合した量の間接測定であった。PEG修飾フィブリルでは全部のBSAが上澄みの中に残ったが、未修飾または塩素酸塩酸化フィブリルにはほぼ完全に結合した（図1参照）。

過酸化ベンゾイルを使用して製造されたPEG修飾フィブリルによる非特異結合の低下とNHSエステルカップリングによる非特異結合の低下の比較

塩素酸塩で酸化されたフィブリル、過酸化ベンゾイルを使用してPEGによって修飾されたフィブリル、及びNHSエステルカップリングによってPEGで修

飾された塩素酸塩酸化フィブリルのストック分散物を、pH 7.0、50mMの磷酸カリウム緩衝液の中の1.0mg/mlで、超音波処理により製造した。各々の一連の3倍希釈物の2mlを、7つのポリプロピレン管の各々に入れた。同じ緩衝液の中のβ-ラクトグロブリン(βLG)の0.2mg/mlの溶液の100μlを各管に、及び3つの緩衝液ブランクに加えた。タンパク質を含有しない3つの緩衝液の管もつくった。どの管もボルテックスミキサーで混合し、そして10分毎に30秒ボルテックスしながら60分間インキュベートした。全ての管を遠心器にかけてフィブリルを分離し、そして上澄みの1mlのアリコート 新しい管に移し、そしてマイクロBCAプロテインアッセイ(ピアス)を使用して全タンパク質含量について分析した。上澄みの中に残っているタンパク質のレベルはタンパク質に非特異に結合した量の間接測定であった(図2参照)。管の各々について、βLGはNHSエステルのルートを通してPEGによって修飾されたフィブリルの上澄みの中に残っており、非特異結合がないことを意味した。BPOルートを通してPEGによって修飾されたフィブリルは1.0mg/mlの最も高いフィブリルのレベルにおいてβLGの僅かだけ(約10%)の結合を示し、そしてもっと低いレベルでは有意な結合を示さなかった。対照的に、塩素酸塩で酸化されたフィブリルに対しては0.1mg/ml以上のレベルでほぼ完全に結合し、そして実質的結合はこれらフィブリルの0.01mg/mlまでみられた。

8. 官能化されたナノチューブの二次誘導体

カルボン酸で官能化されたナノチューブ

カルボン酸から製造できる二次誘導体の数は本質的に無限である。アルコール又はアミンは酸に容易に連結して適するエステル又はアミドを与える。アルコール又はアミンがジ-又は二官能性、多官能性の分子の一部である場合には、O-又はNH-を通しての連結は他の官能基を垂下基として放出する。二次試薬の代表的な例は次のものである：

一般式

HO-R、Rはアルキル、
アラルキル、アリール、

垂下基

R-

例

メタノール、フェノール、
トリフルオロカーボン、

フルオロエタノール、
ポリマー、 SiR'_3

$\text{H}_2\text{N}-\text{R}$

Rは上記に同じ

R-

OH末端ポリエステル、
シラノール

アミン、アリン、

フッ素化アミン、

シリルアミン、アミン

末端ボタアミド、

タンパク質

$\text{Cl}-\text{SiR}_3$

$\text{HO}-\text{R}-\text{OH}$ 、

Rはアルキル、

アラルキル、 $\text{CH}_2\text{O}-$

$\text{H}_2\text{N}-\text{R}-\text{NH}_2$

Rはアルキル、アラルキル

$\text{X}-\text{R}-\text{Y}$ 、Rはアルキル等； Y-

XはOH又は NH_2 ；

YはSH、 $\text{C}\equiv\text{N}-\text{C}=\text{O}$ 、

CHO、アルケン、アルキン、

芳香族、ヘテロ環

SiR_3-

HO-

$\text{H}_2\text{N}-$

シクロシラン

エチレングリコール、PEG、

ペンタエリトリール、

ビスフェノールA

エチレンジアミン、

ポリエチレンアミン

ポリアミンアミド、

メルカプトエタノール

反応はカルボン酸をアルコール又はアミンでエステル化又はアミノ化するために開発された方法のいずれかを使用して行うことができる。これらの中でも、エ

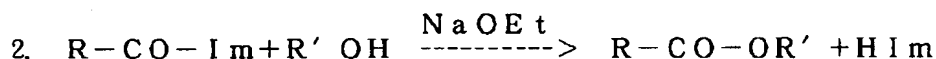
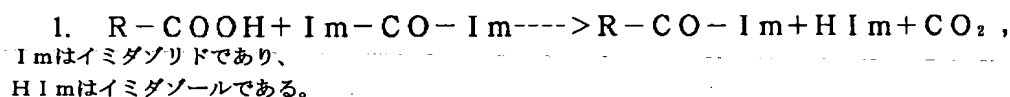
ステル又はアミドのためにアシル化剤としてN, N'-カルボニルジイミダゾール (CDI) を使用する、H. A. スタップの方法 (H. A. Staab, Angew. Chem. Internat. Edit., (1) 351 (1962)) ; およびアミド化のためのカルボン酸を活性化するためにN-ヒドロキシスクシンイミド (NHS) を使用するアンダーソンらの方法 (Anderson, et al., J. Amer. Chem. Soc., 86, 1839 (1964)) が使用された。

実施例 20

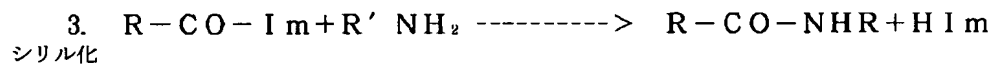
官能化されたフィブリルの二次誘導体の製造

N, N' -カルボニルジイミダゾール

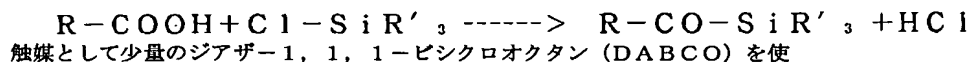
この手順には清浄な乾燥した非プロトン性溶媒（例えば、トルエン又はジオキサン）が要求された。試薬の化学量論量で十分であった。エステルのためには、カルボン酸化合物を不活性雰囲気（アルゴン）の中でトルエン中で、トルエンに溶解したCDIの化学量論量と室温で2時間反応させた。この時間中に、CO₂が発生した。2時間後に、アルコールを触媒量のNaエトキシドと共に加え、そして反応を80℃で4時間継続した。n-アルコールでは、収量は定量的であった。反応は次の通りである：



アミンのアミド化はRTでは触媒されないことが起こる。この手順の中の第一工程が同じである。CO₂の発生後に、化学量論量のアミンをRTで加え、そして1~2時間反応させた。反応は定量的であった。反応は次の通りである：



トリアルキルシリルクロライド又はトリアルキルシラノールは活性水素とは直ちに次の通り反応する：

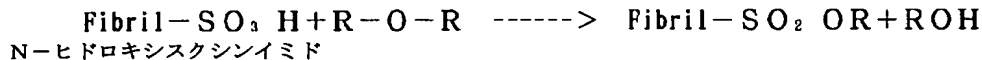


用した。適する溶媒はジオキサンとトルエンであった。

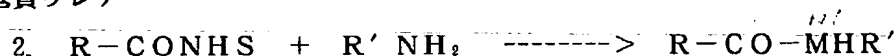
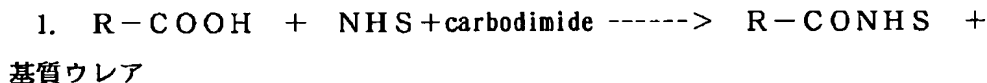
スルホン酸で官能化されたフィブリル

実施例1で製造したようなアリアルスルホン酸は二次誘導体を生成するために更に反応することができる。スルホン酸をLiAlH₄またはトリフェニルホスフィンとヨウ素の組合せによってメルカプタンに還元することができる (March, J. P., p. 1107)。それはまた、ジアルキルエーテルとの反応によってス

ルホン酸エステルに転化できる、すなわち、次の通りである：



第一アミンによるアミド化のためのカルボン酸の活性化はN-ヒドロキシスクシンアミルエステルを通して起こる；カルボジイミドは置換ウレアとして放出される水と結合するために使用される。それから、NHSエステルはRTで第一アミンとの反応によってアミドに転化される。反応は次の通りである：



この方法はタンパク質の側鎖上の遊離NH₂を通してグラファイト性フィブリルにタンパク質を共有結合させるのに特に有効である。この方法によってフィブリルに固定化できるタンパク質の例はトリシン、ストレプトアビジン、及びアビジンを包含する。ストレプトアビジン（又はアビジン）フィブリルはビオチン化された物質（biotinylated substance）のための固体担体を提供する。

実施例 2.1

タンパク質をNHSエステルを通してフィブリルに共有結合

タンパク質がNHSエステルを通してフィブリルに共有結合することができることを実証するために、ストレプトアビジン、アビジン及びトリプシンをフィブリルに次の通り結合させた。

0. 5mgのNHS-エステル フィブリルを、5mMの磷酸ナトリウム緩衝液（pH 7.1）で洗浄し、そして上澄みを捨てた。200 μlのストレプトアビジン溶液（同じ緩衝液中の1. 5mg）をフィブリルに添加し、そして混合物を

室温で5. 5時間回転させた。それから、フィブリルを1mlの下記緩衝液で順番に洗浄した：5mMの磷酸ナトリウム（pH 7.1）、PBS（0. 1Mの磷酸ナトリウム、0. 15MのNaCl、pH 7.4）、ORIGENTMアッセイ緩衝液（IGEN, Inc., Gaithersburg, MD）およびPBS。ストレプトアビジンフィブ

リルは更に使用するためにPBS緩衝液中に貯蔵した。

2. 25mgのNHS-エステル フィブリンを500 μ lの5mMの磷酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.1) の中で40分超音波処理し、そして上澄みを捨てた。フィブリンを500 μ lの5mMの磷酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.1) の中で超音波処理し、そして2mgのアビジン (シグマ、A-9390) を含有する同じ緩衝液中でつくったアビジン溶液の300 μ lを加えた。この混合物を室温で2時間回転させ、40℃で一晩貯蔵し、そして室温で更に1時間回転させた。フィブリンを1mlの5mMの磷酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.1) で4回、そしてPBS緩衝液で2回洗浄した。アビジン フィブリンを貯蔵するために200 μ lのPBS緩衝液中に懸濁させた。

トリプシン フィブリンは、1. 1mgのNHS-エステル フィブリン (アビジン フィブリンにおけると同じように処理した) と、5mMの磷酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.1) 中でつくった1.06mMのトリプシン溶液の200 μ lとを混合し、そして室温で6.5時間回転させることによって製造された。それから、トリプシン フィブリンを1mlの5mMの磷酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.1) で3回洗浄し、そして貯蔵のために400 μ lの同じ緩衝液の中に懸濁した。

実施例 2 2

フィブリン上のトリプシンの酵素活性度の測定

トリプシンは基質L-BAPNA (N_α -ベンゾイル-L-アルギニン-p-ニトロアニリン) と反応することができ、そして410nmの光を吸収する着色化合物を放出した。この反応のためのアッセイ緩衝液は、0.05Mのトリス、0.02MのCaCl₂、pH 8.2であった。反応は1mlの浅鉢の中で、5 μ lのL-BAPNAストック溶液 (H₂O中の3.7%DMSOの中の50mM) とアッセイ緩衝液1ml中の10~25 μ gのトリプシン フィブリンを混合することによって行った。410nmにおける吸光度低下を10分間モニターした。それから、

酵素活性度 (μ M/分) を初期勾配から算出した。

共有結合したトリプシン フィブリンについては、活性度は13 μ gのフィブリン当たり5.24 μ M/分であった。この結果は、アッセイ条件下で1 μ Mのトリ

ブシン当り $46 \mu\text{M}$ /分であると測定されたトリブシン溶液の既知濃度の活性度を割ることによって、フィブリル上の活性トリブシンの量に変換することができる。従って、フィブリル 1 g 当りの活性トリブシンの量は $8.3 \mu\text{mol}$ (又は 195 mg) であった。

実施例 2 3

表面チオールを有するカーボンナノチューブ

実施例 2 7 (下記) に記載されているようにエチレンジアオンによる修飾によって製造されたアミノ カーボンナノチューブ (CN) の 0.112 g を、 50 mM の EDTA を含有する $\text{pH} 8.0$ の 0.05 M の磷酸ナトリウム緩衝液の 20 ml の中に懸濁させた。この懸濁物をブランソン (Branson) 450 W ット プローブ超音波装置で 5 分 超音波処理して CN を分散させた。得られた懸濁物は全く粘稠であった。攪拌しながら、懸濁物の中にアルゴンを 30 分 吹き込んだ。 50 mg の 2-イミノチオラン塩酸塩を加え、そして混合物をアルゴン下で連続攪拌しながら 70 分 反応させた。得られた材料をポリカーボネート膜フィルターで濾過し、緩衝液で 2 回 、DI 水で 1 回 、そして無水 EtOH で 2 回 洗浄し、その全てをアルゴンブラケット下で行った。このチオール修飾された CN を真空デシケーターの中に入れ、そして一晩吸排気した。最終重量は 0.118 g であり、重量増加に基づいて 55% の転化率であった。

チオール化されたナノチューブの 10 mg の試料を 10 ml の DI 水の中に超音波処理で懸濁させ、そして $0.45 \mu\text{m}$ のナイロン膜で濾過してフェルト状マットを生成した。マット部分を真空デシケーターの中に貯蔵した後に ESCA によって分析し、それは 0.46% の緩衝液と 1.69% の窒素を示し、チオール修飾 CN への成功した転化が確認された。

実施例 2 4

チオール修飾されたカーボンナノチューブを金表面に結合

金箔 (アルファ/エーサル (Alfa/Aesar)) $2 \text{ cm} \times 0.8 \text{ cm}$ を、1 部の 30% 過

酸化水素と 3 部の濃硫酸の溶液で 10 分間 清浄にし、そして脱イオン水で洗った。箔片を金の導線に接続し、そしてサイクリック ボルタモグラムが約 10 分間

変化しなくなるまで1Mの硫酸の中で $-0.35\text{ V vs. Ag/AgCl}$ から $-1.45\text{ V vs. Ag/AgCl}$ までの間で電気化学的に循環させた。それから、脱イオン水で洗い、そして乾燥した。大きな片を4つの $0.5\text{ cm} \times 0.8\text{ cm}$ の薄片に裁断した。

アルゴンで30分間バージすることによって脱酸素化した無水EtOHの10 mlを、2つのガラス槽の各々に入れた。一つの槽の中に16 mgのチオール修飾CN (CN/SH) と2片のAuを、そして他方の槽の中に1片のAuと、チオール誘導体をつくるために使用したエチレンジアミン修飾CNの10 mgを懸濁させた。全ての操作はAr充填グローブバッグの中に行った。槽をAr下で密封し、そして冷却した超音波浴の中に1時間入れた。密封槽をRTで72時間放置した。槽からAu試料を取り出し、EtOHで3回洗浄し、自然乾燥し、そして保護槽の中に入れた。

CN/エチレンジアミンおよびCN/SHに曝されたAu箔試料を、走査電子顕微鏡 (SEM) によって検査して表面上のCNの有無を調べた。 $40,000\times$ での検査はCN/SHに曝された表面上に分布されたCNの存在を示したが、CN/エチレンジアミンに曝されたAu箔試料ではCNが観察されなかった。

実施例 25

アミノフィブリルからマレイミドフィブリルを製造

アミノフィブリルは実施例 13に従って製造した。それから、アミノフィブリル (62.2 mg) を磷酸ナトリウム緩衝液 (5 ml, pH 7.2 で 5 mM) の中で超音波処理した。このフィブリル懸濁物に、スルホスクシンミジル-4- (N-マレイミドメチル) シクロヘキサノ-1-カルボキシレート (SMCC; 28.8 mg, 0.66 ミリモル; ピアス, 触媒 No. 22360) を加えた。この反応混合物を室温で一晩攪拌した。フィブリルを水とメタノールで洗浄し、そして生成物フィブリルを真空乾燥した。この生成物上での抗体固定化はマレイミドフィブリルの存在を確認した。異なるリンカーを有する他のマレイミド (たとえば、スルホ-SMCC、4- [p-マレイミドフェニル] 酪酸スクシンイミジル [S

MPB]、スルホ-SMPB、m-マレイミドベンジル-N-ヒドロキシスクシ

ンイミドエステル〔MBS〕、スルホーMBS、等々）フィブリルは、同じ方法を通して製造できる。

得られたマレイミド フィブリルはタンパク質、例えば、抗体および酵素、の共有結合固定化のための固体支持体として使用できる。抗体はマレイミドで活性化されたフィブリルの上に共有結合で固定化された。抗体の容量は硝酸化／還元法（実施例13）から得られたアミノフィブリルを使用した場合にはフィブリル1 g 当り1.84 mgであった、そしてカルボキシルフィブリルから誘導されたアミノフィブリルを使用した場合にはフィブリル1 g 当り0.875 mgであった。

実施例 2 6

カルボン酸で官能化されたフィブリルからの エステル／アルコール誘導体の製造

カルボン酸で官能化されたフィブリルを実施例14のように製造した。カルボン酸含有量は0.75 meq/g であった。室温で溶媒としてトルエンを使用して不活性雰囲気中でフィブリルと化学量論量のCDIとの反応をCO₂の発生が止むまで行った。その後で、このスラリーを80℃で10倍モル過剰のポリエチレングリコール（分子量600）と触媒としての少量のNaOEtをもって反応させた。2時間反応後、フィブリルを濾過によって分離し、トルエンで洗浄し、そして100℃で乾燥した。

実施例 2 7

カルボン酸で官能化されたフィブリル（177-041-1） からのアミド／アミン誘導体の製造

セラムストッパー（serum stopper）を装着した100mlのRBフラスコの中で攪拌しながら20mlの無水ジオキサンの中に、0.242 gの、塩素酸塩で酸化されたフィブリル（0.62 meq/g）を懸濁させた。20倍モル過剰のN-ヒドロキシスクシンイミド（0.299 g）を加え溶解させた。これに続いて、20倍モル過剰の1-エチル-2-（3-ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド（EDAC）（0.510 g）を加え、そして攪拌を室温で2時間継続した。この後に、攪拌を止め、上澄みを吸引し、そして固定を無水ジオキサンと

MeOHで洗浄し、そして0.45 μ のポリスルホン膜で濾過した。濾膜上で固体を更にMeOHで洗浄し、そして真空乾燥を重量低下が観察されなくなるまで行った。NHSで活性化された酸化フィブリルの収率は観察された6%増量に基づいて100%であった。

100 μ lのエチレンジアミン(en)を10mlの0.2MのNaHCO₃の緩衝液の中に加えた。等容量の酢酸(HOAc)を加えてpHを8近くに維持した。激しく攪拌しながら、NHSで活性化された酸化フィブリル(0.310g)を加え、そして1時間反応させた。追加の300 μ lのenと300 μ lのHOAcを更に10分間で加えた。溶液を0.45 μ ポリスルホン膜で濾過し、NaHCO₃緩衝液、1%のHCl、DI水およびEtOHで順に洗浄した。固体を一晚真空乾燥した。このHCl塩を更なる分析および反応のためにNaOHとの反応によって遊離アミンに戻した(177-046-1)。

このアミノ化フィブリル(GF/NH₂)の上に存在するNの量を定量化するためにESCAを行った。177-046-1のESCA分析は0.90原子%のNを示した(177-059)。さらに、このNのどれだけの量が、アクセシブルな反応性の基として存在するのかを調べるために、利用可能な第一アミン基による対応シッフ塩基結合を生成するためにペンタフルオロベンズアルデヒドとの気相反応によって誘導体を生成した。ESCA分析はなお予想通りの0.91原子%と、1.68原子%のFを示した。これは0.34原子%のNがアミノ化フィブリル上の反応性の第一アミンとして存在するとの解釈になる(ペンタフルオロベンズアルデヒド分子当り5つのF)。0.45原子%のNのレベルは各Nの自由端によって完全反応を引き受けると予想されるであろう。観測されたレベルはNHSで活性化されたフィブリルによるNの反応から非常に高い収率を指標しており、そして利用可能な自由アミン基の反応性を確認している。

ESCAデータから算出された自由アミンとして存在する0.34原子%のNのレベルにおいては、フィブリルは他の材料のカップリングを許す自由アミン基によって殆ど完全な被覆されているのであろう。

カルボキシルフィブリルは、エチレンジアミン(炭素2個のリンカー)ではなく、モノー保護した1,6-ジアミノヘキサン(炭素6個のリンカー)を使用し

てやはりアミノフィブリルに転化された。

実施例 28

カルボン酸で官能化されたフィブリルからの アミン誘導体の製造

フィブリル上のカルボキシル基は、そのカルボキシル基を、2つ又はそれ以上のアミノ基（その少なくとも1つは *t*-Boc や SBZ のような基によって保護されていない）を有する化合物の1つのアミノ基と反応させることによって修飾されることができる。そうして生成されたフィブリルはアミド誘導体であり、ここではフィブリルカルボニル基からアミドカルボニルが誘導されており、そしてアミド窒素は一つまたはそれ以上の第一アミノ基を含有する基（例えば、アルキル基）によって置換されている。それから、これらアミノ基は使用のために又は更なる修飾のために利用可能である。

出口をゴムセラム隔膜で完全にとめてある乾燥した焼結ガラス濾過漏斗の中に1gのカーボンフィブリルを入れ、そして無水ジクロロメタンを加えて覆った。N-メチルモルホリン（758 μ L、7ミリモル）を加え、この懸濁物をへらの助けで混ぜた。それから、イソブチルクロロホルメート（915 μ L、7ミリモル）を加え、この懸濁物を1時間の間、定期的に混ぜた。混合物は、実用であるほどのパラフィルムのカバーによって大気の湿気から保護した。

その間にN-boc-1, 6-ジアミノヘキサン塩酸塩（1.94g、7.7ミリモル）をジクロロメタン（10mL）と1NのNaOH（10mL）の間に分配した。後者の有機相を無水炭酸カリウムで乾燥し、そして綿栓を有する使い捨てパスツールピペットを通して濾過し、そしてN-メチルモルホリン（758 μ L、7ミリモル）を加えた。

濾過漏斗からセラム隔膜を取り除き、減圧濾過によってフィブリルから試薬を除去し、そしてフィブリルを無水ジクロロメタンで洗浄した。セラム隔膜を再び取り付け、そしてN-メチルモルホリンとモノ保護ジアミノヘキサンの混合物をフィブリルに加えた。混合物を1時間の間、定期的に攪拌した。それから、濾過によって試薬を除去し、そしてフィブリルをジクロロメタン、メタノール、水、メタノール、及びジクロロメタンで順に洗浄した。

トリフロロ酸とジクロロメタンの50%混合物をフィブリルに加え、そして混合物を20分間定期的に攪拌した。溶媒を濾過によって除去し、そしてフィブリルをジクロロメタン、メタノール、水、0.1M KNaOH、及び水で順に洗浄した。

この方法の効能を実証するために、アミノフィブリルの小さな試料を、アミノ基と特異に反応するように修飾されている「活性化された」ホースラディッシュペルオキシダーゼ(HRP; 5mg、ピラス)と反応させた。フィブリルは冷たく保ちながら数日間繰り返し洗浄した(懸濁、回転、及びエッペンドルフ管での遠心分離によって)。ほぼ2週間後に、グリシン緩衝液、pH4.4、の中の H_2O_2 /ABTSによって酵素を検定した。10分以内に溶液に緑色が現れ、それは酵素の存在を意味した。対照フィブリル(活性HRPで処理されており、そして同じ期間の間洗浄した、COOHフィブリル)は何らかの触媒活性が仮にあるとしても殆ど示さなかった。

実施例 29

カルボン酸で官能化されたフィブリルからの

シリル誘導体の製造

実施例14のように製造した酸官能化フィブリルを不活性雰囲気中でジオキサンの中にスラリー化した。攪拌しながら、化学量論量のクロロトリエチルシランを加え、そして0.5時間反応させ、その後、ジオキサン中のDABCOの5%溶液を数滴加えた。この系を更に1時間反応させ、その後にフィブリルを濾過によって回収し、そしてジオキサンの中で洗浄した。フィブリルを5"真空で100℃で一晩乾燥した。

表5に二次誘導体の製造をまとめた。生成物はESCAにより、C、O、N、SiおよびFの表面含量について分析した。

表V

二次誘導体の製造のまとめ

反 応 体	垂 下 基	ESCA 分 析, 原 子 %					
		S	C	N	O	Si	F
成長As	----	--	98.5	--	1.5	--	--
塩素酸塩 酸化物	-COOH, C=O, C-OH	--	92.4	--	7.6	--	--
$H_2N-C_2H_4-NH_2$	$-CONHC_2H_4NH_2$	--	99.10	0.90	--	--	--
	$-CONHC_2H_4N=OC_6F_5$	--	97.41	0.91	--	--	1.68

実施例 30

カルボン酸で官能化されたフィブリンからの
シリル誘導体の製造

実施例 14 のように製造した酸官能化フィブリンを不活性雰囲気中でジオキサンの中にスラリ化した。攪拌しながら、化学量論量のクロロトリエチルシランを加え、そして 0.5 時間反応させ、その後、ジオキサン中の DABCO の 5% 溶液を数滴加えた。この系を更に 1 時間反応させ、その後にフィブリンを濾過によって回収し、そしてジオキサンの中で洗浄した。フィブリンを 5" 真空で 100℃ で一晩乾燥した。

表 6 に二次誘導体の製造をまとめた。生成物は ESCA によって分析した。分析は所定の垂下基の導入を確認した。生成物を ESCA によって、C、O、N、Si および F の表面含量について分析した。

表 VI

二次誘導体の製造のまとめ

		ESCA 分 析, 原 子 %					
反 応 体	垂 下 基	S	C	N	O	Si	F
CF ₃ CH ₂ OH	-COOCH ₂ CF ₃						NOT ANALYZED
PolyEG-600	-CO-(OC ₂ H ₄ O-)H						NOT ANALYZED
HO-C ₂ H ₄ -SH	-COOC ₂ H ₄ SH						
Cl-SiEt ₃	-COSiEt ₃						

実施例 3 1

カルボン酸で官能化されたフィブリルからの

第三及び第四アミン誘導体の製造

第三及び第四アミン官能基はナノチューブ上のカルボキシル基と第三又は第四アミン前駆体のアミン又はヒドロキシルどちらかの基とによるアミド又はエステル結合を通してカーボンナノチューブの表面に結合させることができる。かかる第三又は第四アミンフィブリルは生体触媒を分離するためのクロマトグラフィー用マトリックスとして有効である。第三又は第四アミンフィブリルはディスク形状のマットに加工することができるし、又は分離のための通常のクロマトグラフィー用媒体（例えば、アガロース）と混合することができる。

トリエチルエタノールアミンヨージド前駆体の製造

100mlの丸底フラスコの中で10gのN, N-ジエチルエタノールアミン（85.3ミリモル）を10mlの無水メタノールと混合した。それから、20gのヨウ化エチル（127.95ミリモル）と10mlの無水メタノールの混合物をピペットを使用して滴加した。この反応混合物を30分還流した。反応混合物を室温まで放冷したとき、白色の結晶性生成物が形成された。この白色固体生成物を濾過によって集め、そして無水メタノールで洗浄した。さらに、生成物を真空下でデシケーターの中で一晩乾燥させた。33%収率で、生成物（10.3g、37.7ミリモル）が得られた。

第四アミンで官能化されたグラファイト性フィブリルの製造

真空乾燥した25mlのウィートン(Wheaton)使い捨てシンチレーション パイ

アルの中で、100mgの乾燥カルボキシルフィブリル（フィブリル1g当り約0.7ミリモルのCOOH）を2mlの無水ジメチルホルムアミドと混合し、この混合物を60秒間超音波処理した。さらに2mlのジメチルホルムアミド、39mgのジメチルアミノピリジン（0.316ミリモル）及び50 μ lのジイソプロピルカルボジミド（0.316ミリモル）を反応バイアルに加えた。この反応混合物を室温で1時間攪拌し、それから88mgのトリエチルエタノールアミンヨージド（0.316ml）をバイアルに加え、そして反応を一晩行なった。得られたフィブリルを20mlのジメチルホルムアミドで3回、20mlの塩化メチレンで3回、メタノールで3回、そして最後に脱イオン水で3回洗浄した。生成物を真空乾燥した。窒素の元素分析からの結果はフィブリル上のカルボキシル基の約50%が第四アミン成分の中の第一アミノ基と反応していたことを示した。

実施例 3 2

第四アミン官能化グラファイト性フィブリル上での
ウシ血清アルブミン（BSA）のクロマトグラフィー

60mgの、2-ジエチルアミノエチルアミンで修飾されたカルボキシルフィブリルと180gのセフェデックス（Sephadex）G-25スーパーファイン樹脂（ファルマシア（Pharmacia）、スウェーデン、ウプサラ在）とを含有する水性スラリーを室温で一晩放置して固体支持体の完全な水和を確実にした。このスラリーを1cm \times 3.5cmのカラムに充填した。カラムを5mMの磷酸ナトリウム緩衝液（pH 7.3）の流速0.2ml/分によって平衡にした。カラムにBSA（0.6mg、脱イオン水0.1mlの中）を装填した。カラムを5mMの磷酸ナトリウムの流速0.2ml/分によって溶出させ、そして0.6mlの分画を集めた。溶出プロフィールはUV-可視検出器を使用してモニターし、そして図3に示した。検出器がカラムからタンパク質がこれ以上溶出されないことを示したら、5mMの磷酸ナトリウム（pH 7.3）の中の1M KClを加えることによって結合BSAを溶出させた。各分画の中のタンパク質の存在はマクイロBCAアッセイ（ピアス、イリノイ州ロックフォード在）により同定した。

実施例 3 3

第四アミン官能化グラファイト性フィブリル上での ウシ血清アルブミン (BSA) のクロマトグラフィー

100mgの、2-(2-トリエチルアミノエトキシ)エタノールで修飾されたカルボキシルフィブリルと300gのセフェデックスG-25スーパーファイン樹脂とを含有する水性スラリーを室温で一晩放置した。得られたスラリーを直径1cmのカラムに充填した。カラムを流速0.1~0.6ml/分の5mMの磷酸ナトリウム緩衝液(pH7.3)で平衡にした。カラムにBSA(2.7mg、脱イオン水0.2mlの中で)を装填した。カラムを5mMの磷酸ナトリウムの流速0.2ml/分によって溶出させ、そして0.6mlの分画を集めた。溶出プロフィールはUV-可視検出器を使用してモニターした(図4)。検出器が5mMの磷酸ナトリウム緩衝液ではもはやタンパク質がカラムから溶出されないことを示したら、溶媒を5mMの磷酸ナトリウム(pH7.3)の中の1MのKClに変更した。各分画の中のタンパク質の存在はマクイロBCAアッセイ(ピアス、イリノイ州ロックフォード在)により同定した。

9. グラファイト性カーボンの酵素的官能化

グラファイト性カーボン、特に、カーボン・ナノチューブ、の表面に官能基を導入するのに生体触媒を使用できる。今までは、グラファイト性カーボンは純粋に化学的手段(例えば、1994年12月8日に出願された米国特許出願第08/352,400号を参照)によって修飾されていた。これら化学的方法は次のような欠点を有する；(1)過酷な条件(極端の温度、極端な活性度または有毒な化学物質の使用)、および(2)特異性の欠如(たとえば、酸化がCOOH、CPH、およびCHOの基を導入する)。固体グラファイト性カーボン(たとえば、カーボンフィブリル；ハイパーイオン社)の水性懸濁物は、グラファイト性カーボンを基質として受け入れることができそして化学的に修飾されたグラファイト性カーボンをもたらす化学反応を行うことができる一つまたはそれ以上の酵素を含有して製造される。水性懸濁物は酵素(単数または複数)がグラファイト性カーボンの表面を触媒的に修飾するのに十分な時間酵素(単数または複数)が反応を行うために許容できる条件(温度、pH、塩濃度、等々)に維持される。

反応中、酵素（単数または複数）がグラファイト性カーボンの表面に接近することを可能にするために懸濁物は連続混合される。反応が満足な度合いに進行するために許容できる反応時間の後に、酵素は濾過洗浄によってカーボンから除去される。

今日迄は、2つのタイプの酵素が使用されてきた：チトクロム p 450 酵素とペルオキシダーゼ酵素。両方の場合とも、酵素のタイプが十分研究されており、それらは芳香族のタイプの基質を許容し、そしてそれらの最適反応条件は研究されている。どちらの酵素のタイプもヒドロキシル基をそれらの基質の中に導入する；そしてヒドロキシル基をグラファイト性カーボンの中に導入するであろう。酵素の外に、その他の生体触媒、例えば、リボザイムおよび触媒の抗体、または酵素の非生物学的擬態はカーボンナノチューブを触媒的に官能化するように設計されることができるとは思われる。

実施例 3 4

ラット肝ミクロソームを使用する酵素的官能化

チトクロム p 450 酵素は肝臓の中で解毒剤として機能すると一般に考えられている (F. Peter Guengerich, American Scientist, 81, 440-447 及び F. Peter Guengerich, J. Biol. Chem., 266, 10019-10022)。それらはポリ芳香族毒性化合物のような外来化合物をヒドロキシル化する。ヒドロキシル化はこれら化合物が尿によって体から消えることができるように水溶性になることを可能にする。肝臓には多数の様々なチトクロム p 450 酵素が存在し、各々が異なる基質特異性を有する。これらの広い範囲の特異性は解毒を要求する環境毒素の範囲が広いので重要であると考えられる。個々のチトクロム p 450 s は商業的に入手可能であるが、そのいずれかがカーボンナノチューブを基質として受け入れるかどうかについての情報は入手可能でない。この不確かさ故に、本発明者らは最初にカーボンナノチューブを、多数の異なるチトクロム p 450 s を含有したラット肝抽出物と一緒にインキュベートすることに決めた。

2体のラット（「実験用」ラット）にはチトクロム p 450 酵素の発現を誘発させるために、それらの飲料水中でフェノバタール（1 g/L、pH 7.0）を1週間投与した。別の2体のラット（「対照」ラット）には、フェノバタール

ルを含まない水を与えた。それから、ラットを犠牲にして、それらの肝臓から標準手順（例えば、次の文献を参照：Methods in Enzymology, Vol, 206）によってチトクロム p 450 s を含有するミクロソームを調製した。

ミクロソームをカーボンナノチューブ（フィブリル）と混合してチトクロム p 450 s をグラファイト性カーボンと反応させた。この実験では、0.1 M のトリス、1.0 mM の NADPH、0.01 % の Na_2S_3 、10 mM のグルコース-6-ホスフェート、グルコース-6-ホスフェート デヒドロゲナーゼ（1 ユニット/mL）、pH 7.4、を含有する、緩衝剤で処理済みの溶液の中で、5 mg のフィブリル（「ブレーン」即ち非官能化フィブリルと「COOH」即ち酸化フィブリルの両方）をミクロソーム（実験用と対照の両方のミクロソーム）と混合した。NADPH はチトクロム p 450 s のための補基質として包含されており、グルコース-6-ホスフェート、グルコース-6-ホスフェート デヒドロゲナーゼは、（ NADP^+ がチトクロム p 450 s によって生成された場合に） NADP^+ から NADPH を再生するために添加された。混合物をマイクロ遠心管の中で室温で約 1.5 日回転させた。インキュベーション後、フィブリルを脱イオン水、1 M の HCl、1 M の NaOH、0.05 % のトリトン（Triton）X-100、0.05 % のツイーン（Tween）、メタノール、及び 1 M の NaCl で手広く洗浄した。洗浄後、タンパク質用のマイクロ BSA アッセイ（ピアス）はフィブリルがそれと組み合わされたタンパク質をなお有しているらしいことを示した（しかし、洗浄液にはタンパク質が検出されなかった）。

ヒドロキシル基がフィブリル表面上に導入されたのかどうかを測定するためにフィブリルを N-FMOC-イソロイシンと反応させた。異なるバッチのフィブリル（対照と実験用）（各々 1.5 mg）を、4.45 mg/mL の FMOC-イソロイシン、1.54 mg/mL のジメチルアミノピリジン（DMAP）及び 2.6 mg/mL の 1,3-ジシクロヘキシルカルボジイミド（DCC）を含有する乾燥 DMF の溶液の 333 マイクロリットルと反応させた。（連続回転させながらの）2 日間の反応後に、フィブリルを DMF、ピペリジン、ソタノール、水、DMF、メタノール、塩化メチレン（各 600 μL ）で洗浄した。この洗浄順序を 3 回繰り返した。存在したイソロイシンに関するアミノ酸分析のために、フィブリルをガ

ルブレイス研究所 (Galbraith Laboratories) (テネシー州ノックスビル(Knoxville)在) に送った。結果はイソロイシンの外に他の多数のアミノ酸が見られたのではっきりせず、それはラット肝ミクロソーム抽出物の中に存在したタンパク質、ペプチド、及びアミノ酸がフィブリルから完全には洗い去られなかったことを意味する。従って、洗浄および分析における技術的難しさ故に、チトクロム p 450s がフィブリルを官能化したのかどうかを決定することができなかった。

実施例 35

商業的に入手可能な組換えチトクロム p 450 酵素を

使用してのフィブリルの官能化

チトクロム p 450s 源としてラット肝ミクロソームを使用することに関連した不純物を避けるために、個々のチトクロム p 450 酵素を購入した (ジェンテスト (GENTEST)、MA 州ホバーン (Woburn) 在)。チトクロム p 450 酵素は膜との関連で活性であるに過ぎないので、これら酵素はミクロソーム調製物として供給される。上記のものに似た反応手順を使用して、本発明者らは次のチトクロム p 450s を試験した: CYP1A1 (触媒 #M111b)、CYP1A2 (触媒 #M103c)、CYP2B6 (触媒 #M110a)、CYP3A4 (レダクターゼを含む、触媒 #M107r)。反応溶液には MgCl_2 (0.67 mg/mL) も包含された。この実験では、フィブリルはソックスレー装置の助けをもって洗浄した。

導入されたヒドロキシル基の分析は、チトクロム p 450 と反応し洗浄されたフィブリルと着色試薬 3, 5-ジニトロ安息香酸 (DNBA) との反応によって行った。カップリングは N-FMOC-イソロイシンについて上記に説明した通りに行った。DNBA との反応の後に、フィブリルを DMF で洗浄し、そして残留した (共有結合した) DNBA は 6M の HCl または 46 ユニット/mL のブタ肝エステラーゼ (シグマ) を使用して加水分解した。解放された DNBA の分析は加水分解処理の後のフィブリルを取り囲んでいる上澄みの HPLC 分析によって行った。解放された DNBA の HPLC 分析は、Vydac C18 逆相分析カラム (触媒 #218TP54) を備えたウォーターズ (Waters) HPLC システ

ムで、そして0.1%のTFAを含有する脱イオン水（溶媒A）から0.1%のTFAを含有するアセトニトリル（溶媒B）までの線状勾配で、行った。

実施例36

ペルオキシダーゼを使用してのフィブリルの官能化

ペルオキシダーゼ基質特異性についての文献記述は、カーボンナノチューブがこれら酵素のための基質であるかも知れないことを包含していた（J.S. Dorick et al., Biochemistry (1986), 25, 2946-2951; D.R. Buhler et al., Arch. Biochem. Biophys. (1961) 92, 424-437; H.S. Mason, Advances in Enzymology, (1957) 19, 79; G.D. Nordblom et al., Arch. Biochem. Biophys. (1976) 175, 524-533)。ペルオキシダーゼ（水素ペルオキシダーゼ、タイプII、シグマ）がフィブリルの表面上にヒドロキシル基を導入できるかどうかを測定するために、フィブリル（11mg）を、50mMの酢酸ナトリウムを含有する溶液（1.25mL, pH5.0）の中で、ホースラディッシュ ペルオキシダーゼ（200nM）と混合し、そしてジヒドロキシフマル酸（15mg）を、反応の最初の3時間の間に5mgで、加えた。反応は気体酸素を間欠的に吹き込みながら4℃で全体で5時間行った。反応後、フィブリルを水、1NのNaOH、メタノール、及び塩化メチレン（各200mL）で洗浄した。対照反応は熱不活性化されたペルオキシダーゼ（100℃で5分）を使用して行った。

ペルオキシダーゼで触媒されたフィブリルのヒドロキシル化の大きさを分析するために、フィブリルを乾燥DMF中でイミダゾールの存在下でt-ブチルジメチルシリルクロリド（アルドリッチ）と反応させた。フィブリルの洗浄後、フィブリルの中に導入された珪素の元素分析のために、フィブリルをロバートソンミクロリット研究所（Robertson Microlit Laboratories, Inc）（NJ州マジソン在）に送った。分析の結果はフィブリルの表面上の珪素の存在についてははっきりしなかった。元素分析のために提出したフィブリルの中の小さなチップの中に、実験に使用したガラス容器からの珪素が存在したと考えられる。これは実験用試料と対照試料の両方において高い珪素レベルをもたらした。実験の結論はペルオキシダーゼはフィブリルの中にヒドロキシル基を導入したであろうというも

のであるが、技術的に難しいために本発明者らは導入されたヒドロキシル基の存在を測定することを妨げられた。

10. 無酸素フィブリル表面への電子親和物付加によって

又は金属化によって官能化されたナノチューブ

活性化した電子親和物を無酸素フィブリル表面に付加することにより得ることができる主な生成物は垂下の $-\text{COOH}$ 、 $-\text{COCl}$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2-$ 、ハロゲン、または $\text{HC}=\text{O}$ を有する。これらは次の反応によって二次誘導体に転化できる：

$\text{Fibril}-\text{COOH} \longrightarrow$ 上記参照

$\text{Fibril}-\text{COCl}(\text{酸塩化物}) + \text{HO}-\text{R}-\text{Y} \longrightarrow \text{F}-\text{COO}-\text{R}-\text{Y}$

(Sec. 4 / 5)

$\text{Fibril}-\text{COCl} + \text{NH}_2-\text{R}-\text{Y} \longrightarrow \text{F}-\text{CONH}-\text{R}-\text{Y}$

$\text{Fibril}-\text{CN} + \text{H}_2 \longrightarrow \text{F}-\text{CH}_2-\text{NH}_2$

$\text{Fibril}-\text{CH}_2\text{NH}_2 + \text{HOOC}-\text{R}-\text{Y} \longrightarrow \text{F}-\text{CH}_2\text{NHCO}-\text{R}-\text{Y}$

$\text{Fibril}-\text{CH}_2\text{NH}_2 + \text{O}=\text{CR}-\text{R}'-\text{Y} \longrightarrow \text{F}-\text{CH}_2\text{N}=\text{CR}-\text{R}'-\text{Y}$

$\text{Fibril}-\text{CH}_2\text{OH} + \text{O}(\text{COR}-\text{Y})_2 \longrightarrow \text{F}-\text{CH}_2\text{OCOR}-\text{Y}$

$\text{Fibril}-\text{CH}_2\text{OH} + \text{HOOC}-\text{R}-\text{Y} \longrightarrow \text{F}-\text{CH}_2\text{OCOR}-\text{Y}$

$\text{Fibril}-\text{CH}_2-\text{Halogen} + \text{Y}^- \longrightarrow \text{F}-\text{CH}_2-\text{Y} + \text{X}^-$

$\text{Y}^- = \text{NCO}^- , -\text{OR}^-$

$\text{Fibril}-\text{C}=\text{O} + \text{H}_2\text{N}-\text{R}-\text{Y} \longrightarrow \text{F}-\text{C}=\text{N}-\text{R}-\text{Y}$

11. デンドリマー性ナノチューブ

ナノチューブの表面上の官能基の濃度は、特異官能基の数が各ジェネレーションによって増加してデンドリマー(dendrimer)様の構造を形成する結果になる多官能性試薬の一連のジェネレーションによってナノチューブを修飾することによ

って、増加させることができる。得られたデンドリマー性ナノチューブはそこに

タンパク質を共有結合で固定化するための固体支持体として特に有効である、何故ならば、それらはナノチューブ表面に固定化されたタンパク質の密度を増加させるからである。本発明は特異な化学官能基の高密度は高い表面積の粒状カーボンの表面に与えられることができることを実証し、それは従来の高い表面積のカーボンをもってしては困難であった。

実施例 3 7

リジン系デンドリマーの製造

反応順序は図 5 に示されている。重炭酸ナトリウム (5ml, 0. 2 M, pH 8. 6) の中のアミノフィブリル (90mg) の懸濁物に、ジオキサン (5ml) 中の N_{α} , N_{ϵ} -ジ-tert-boc-L-リジン N-ヒドロキシスクシンイミド エステル (120mg, 0. 27 ミリモル) の溶液を加えた。この反応混合物を室温で一晩攪拌した。tert-ブトキシカルボニルで保護したリジンフィブリルを、水、メタノール及び塩化メチレンで完全に洗浄し、そして真空乾燥した。それから、tert-ブトキシカルボニルで保護したリジンフィブリルを、塩化メチレン (5ml) 中のトリフルオロ酢酸 (5ml) によって室温で 2 時間処理した。生成物アミノリジンフィブリルを塩化メチレン、メタノール及び水で完全に洗浄し、そして真空乾燥した。第二および第三ジェネレーションのリジンフィブリルの製造は同じ手順に従った。アミノ酸分析データは、第一ジェネレーションのリジンフィブリルはフィブリル 1 g 当り 0. 6 マイクロモルのリジンを含有し、第二ジェネレーションのリジンフィブリルはフィブリル 1 g 当り 1. 8 マイクロモルを含有し、そして第三ジェネレーションのリジンはフィブリル 1 g 当り 3. 6 マイクロモルのリジンを有することを示した。

カルボキシル デンドリメリック フィブリルはカルボキシルフィブリルと共にアスパラギン酸又はグリタミン酸を使用することによって同じ方法によって製造することができる。

実施例 3 8

カルボキシレート末端デンドリマーの製造

カーボンナノチューブ (CN) コアを有するカルボキシレート末端デンドリマ

一は、代々の、アミノブチルニトリロトリ酢酸 (NTA) の逐次カップリングと、塩素酸塩で酸化されたカーボンフィブリルのNHSエステルによる開始とによって製造できる。

NTAの製造

NTAはホチュリ (Hochuli) の方法 (E. Hochuli, H. Dobeli, and A. Schacher, J. Chromatography, 411, 177-184 (1987)、その内容は本願明細書中に組み入れられる) に従って製造した。

CN/NHSの製造

CN/NHSは実施例20の方法に従って製造した。

CN/NTAの製造

25mlの0.2Mの NaHCO_3 、pH8.1、の中に、0.4gのNTA-HClを溶解した。pHを7.8までもどすために1NのNaOHを加えた。0.5gのCN/NHSを加え、CNを分散させるために混合物を超音波処理し、得られたスラリーを攪拌しながら30分間反応させた。スラリーを0.45 μm のナイロン膜上で濾過し、そしてフィルター上で、pH8.1の炭酸塩緩衝液で2回、そしてDI水で2回洗浄した。修飾されたCNを25mlのMeOHの中に超音波処理によって2回再懸濁させ、濾過して固体ケーキにし、そして最後に真空デシケーターで乾燥した。

CN/NTA/NTAの製造

CN/NTAをNHS活性エステルにまず転化した。90℃のオープンの中で0.386gのCN/NTAを30分乾燥し、それから30mlの無水ジオキサンを含有しアルゴンでバージされた100mlのRBフラスコに移した。攪拌しながら0.4gのN-ヒドロキシスクシンイミドを、次いで0.67gのEDCを加え、更に1時間連続攪拌した。この間中、CNは互いに凝集しがちであった。ジオキサンをデカントして捨て、そして固体を20mlの無水ジオキサンの2回洗浄した。固体を20mlの無水MeOHで洗浄し、その間に凝集は壊れた。固体を0.45 μm のナイロン膜で濾過し、MeOHの中に再懸濁させ、濾過し、そしてフィルター上でMeOHによって洗浄した。

0.2gのNTAを50mlのフラスコに入れ、そして1NのNaOHの10滴

で溶解した。20mlの9.2Mの NaHCO_3 、pH8.1、を加え、それから、CN/NTA/NHSの全てを加え、そして溶液をプローブソニケーターで軽く超音波処理した。混合物を室温で2.5時間反応させた。修飾されたCNを0.45 μm のナイロン膜で濾過し、炭酸塩緩衝液で2回洗浄し、DI水の中に超音波処理によって再懸濁させ、濾過し、そしてDI水で洗浄した。それから、それらを真空デシケーターの中に入れて乾燥した。

CN/NTA/NTA/NTAの製造

上記手順に従って、追加のレベルのNTAを付加した。

CN/NTA/NTA/NTA/NTAの製造

上記手順に従って、追加のレベルのNTAを付加した。

NTA付加の4つのジェネレーションの各々の試料(約10mg)を10mlのDI水の中に超音波処理によって懸濁させ、そして0.45 μm のナイロン膜で濾過してフェルト状マットを形成した。マット切片を真空デシケーターの中に貯蔵し、そしてESCAによって窒素(N)について分析してNTAの相対量を示した。結果は下記の表に示す。

材 料	ESCAによるN%
CN/NTA	0
CN/NTA/NTA	1.45
CN/NTA/NTA/NTA	1.87
CN/NTA/NTA/NTA/NTA	2.20

ESCA結果は継続する各ジェネレーションによる増加する量の導入を立証している。

実施例39

タンパク質支持体としてのカーボンナノチューブデンドリマー

カーボンナノチューブの上に固定化されたタンパク質の密度は、デンドリマーを担持するように誘導化されたフィブリルを使用することによって大きく増加し得る。ホースラディッシュペルオキシダーゼ(HRP)を次の方法に従ったデンドリマー性ナノチューブの上に固定化した：

ブレンフィブリル (0.49mg)、アミノフィブリル (0.32mg)、第一ジェネレーションのリジンフィブリル (0.82mg)、第二ジェネレーションのリジンフィブリル及び第三ジェネレーションのリジンフィブリルを、重炭酸ナトリウム コンジュゲート緩衝液 (600 μ l, 0.1M, 0.9%のNaClを含有する) と共に室温で15分間超音波処理した。それから、それらを重炭酸ナトリウム コンジュゲート緩衝液の中のHRP溶液 (490ml, 5.6mg/mlの酵素ストック溶液) と共に、室温で19時間インキュベートした。HRPを固定化したフィブリルを次の緩衝液 (1ml) で洗浄した: 0.9%のNaClを含有する10mMのNaHCO₃緩衝液、pH9.5 (1X洗浄用緩衝液) で7回、1X洗浄用緩衝液の中の0.1%のトリトンX-100で5回、1X洗浄用緩衝液の中の50%のエチレングリコールで3回。HRPの活性度は過酸化水素溶液 (10 μ l, 10mMストック溶液) およびグリシジン アッセイ緩衝液 (50mM, pH4.4) の中の2, 2-アジノビス (3-エチルベンゾチアゾリン) -6-スルホン酸ニアンモニウム塩 (ABTS, 3 μ l, mMストック溶液) によって、414nmで検定した。結果は次の表に示した:

フィブリル	nmol HRP/g, フィブリル
ブレンフィブリル	3.82
Fib-NH ₂	8.58
Fib-NH-Lys	28.09
Fib-NH-Lys(Lys) ₂	28.30
Fib-NH-Lys(Lys) ₄	46.28

12. 二官能性フィブリル

一つタイプの官能基より多く (例えば、カルボキシル基とアミノ基) を同時にフィブリル上に導入することは、官能化されたナノチューブ、例えば、カルボキシナノチューブをアミノ酸と反応させることによって、できることがわかった。かかる二官能性ナノチューブは多数の分子を、特に、1:1の化学量論量で、そして接近させて、固定化するのに使用できる。

実施例40

リジンの付加による二官能性フィブリルの製造

N_a -CBZ-L-リジン ベンジル エステルの合成

反応順序は図7に示されている。 N_E -(tert-ブトキシカルボニル)-L-リジン (2g、8.12ミリモル) をメタノール (40ml) と水 (40ml) の中に溶解し、そしてトリエチルアミンによってpHを8に調節した。ジオキサンの中のN-(ベンゾイルオキシカルボニル-オキシ) スクシンイミドの溶液 (20mlの中の、2.4g、9.7ミリモル) を、上記混合物に加え、そしてトリエチルアミンによってpHを8~9に維持した。反応混合物を一晩攪拌した。溶媒を回転蒸発によって除去して粗 N_a -CBZ- N_E -(tert-ブトキシカルボニル)-L-リジンを得た。 N_a -CBZ- N_E -(tert-ブトキシカルボニル)-L-リジンを0.2Mの炭酸ナトリウム (4ml) で処理し、そして水性層を除去して白色固体を得た。固体をN,N-ジメチルホルムアミド (40ml) と臭化ベンゾイル (1.16ml) の中に再懸濁させた。反応混合物を室温で一晩攪拌した。反応混合物を酢酸エチル及び水と混ぜ、そして有機相を硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を除去して粗 N_a -CBZ- N_E -(tert-ブトキシカルボニル)-L-リジン ベンジル エステルを得、それを溶媒として酢酸エチル中の25%ヘキサンを使用するシリカゲル クロマトグラフィーによって精製した。塩化メチレン (10ml) の中の N_a -CBZ- N_E -(tert-ブトキシカルボニル)-L-リジン ベンジル エステル (1g、2.2ミリモル) に、トリフルオロ酢酸を0℃で加えた。反応混合物を0℃で10分攪拌し、それから室温で更に2.5時間攪拌した。溶媒を除去し、そして粗生成物を得た。シリカゲルクロマトグラフィーによって純 N_a -CBZ-L-リジン ベンジル エステルを得た。

N_a -CBZ-L-リジン ベンジル エステル フィブリルの合成

塩化メチレン (18ml) 中のカルボニルフィブリル (300mg) の懸濁物に、 N_a -CBZ-L-リジン ベンジル エステル (148mg、0.32ミリモル、20mlの塩化メチレンと176 μ lのトリエチルアミンの中) を加えた。それから、HOBT (43.3g、0.32ミリモル) とEDC (63.3mg、0.32ミリモル) を加えた。反応混合物を室温で一晩攪拌して粗生成物を得た。生

成

物フィブリルをメタノール、塩化メチレン、及び水によって大規模に洗浄し、それから真空乾燥した。

官能性フィブリル Fib-Lys (COOH) NH₂の合成

メタノール (4ml) 中のN_α-CBZ-L-リジン ベンジル エステル フィブリル (113mg) に、水酸化ナトリウム (1N、4ml) を加え、そして反応混合物を一晩攪拌した。生成物N_α-CBZ-L-リジンフィブリルを水およびメタノールで大規模に洗浄し、そしてフィブリルを真空乾燥した。アセトニトリ (4ml) 中のN_α-CBZ-L-リジンフィブリル (50mg) の懸濁物に、トリメチルシリルヨード (1ml) を加えた。混合物を40℃で3時間攪拌した。最終の二官能性フィブリルを水、メタノール、0.5Nの水酸化トリウム、アセトニトリ、及び塩化メチレンによって大規模に洗浄した。アミノ酸の分析はフィブリル1g当り0.3マイクロモルのリジンを示した。

ヒドロキシルとカルボキシル (又はアミノ) の二官能性フィブリルは、セリン、トレオニン又はチオシンを使用することによって、ここに記載したのに似た方法によって製造できる。チオール化とカルボキシル (又はアミノ) の二官能性フィブリルはシステインを使用して製造できる。カルボキシルとアミノの二官能性フィブリルはアスパラギン酸又はグルタミン酸を使用して製造できる。

官能化されたナノチューブの用途

官能化されたグラファイト性ナノチューブはその高い気孔度、化学的及び物理的安定性、及び高い表面積によって多数のバイオテクノロジー分野における固体支持体として有用である。それらは過酷な化学的および熱的处理に適合性であり且つ化学的官能化を非常に受けやすいことが判明した。

例えば、酵素は修飾されたナノチューブ上に共有結合で固定化されることが、その生物学的活性を維持しながら可能である。その上、ナノチューブは生物分子の分離におけるアフィニティークロマトグラフィー用支持体としての用途にも適している。例えば、酵素阻害剤は多段階合成においてナノチューブ上に調製されたので、固定化された阻害剤は巨大分子に近づくことができたし、またタンパク

質と修飾フィブリルとの間に可逆の特異な生物学的認識が起こった。

ナノチューブ表面の疎水性は吸着によってタンパク質の高密度を固定化するに

は十分でない。ナノチューブ表面の疎水性を増加させるために及び疎水性環境を二次元から三次元に拡張するために、様々な長さのアルキル鎖をナノチューブ表面にカップリングさせた。アルキルナノチューブ上に吸着によって固定化されたタンパク質には、トリプシン、アルカリ性ホスファターゼ、リパーゼおよびアビジンが含まれる。これら固定化されたタンパク質の酵素活性度は遊離酵素のものに匹敵しており、それは水溶液中でのそれらの基質の加水分解に向かう触媒効率によって証明された。

加えて、アルキル鎖の末端にフェニル基の付加を有するアルキルナノチューブであるフェニル-アルキルナノチューブも製造された。この修飾は、 π - π 相互作用を通してタンパク質中のアミノ酸フェニルアラニン、チロシン及びトリプトファンと相互作用する芳香族構造を導入した。フェニル-アルキルナノチューブ上へのアルカリ性ホスファターゼ及びリパーゼの吸着はC₈-アルキルナノチューブ上への吸着に匹敵した。

官能化されたフィブリルはタンパク質合成のための固体支持体として有効であることも判明した。

1. 酵素のための固体支持体としての官能化されたナノチューブ

実施例 4 1

吸着による酵素の固定化

アルキルフィブリルの製造

10mgのカルボキシルフィブリル（それは-COOH基を約0.007ミリモル含有する（10mgのフィブリル×0.7ミリモルの-COOH/mgフィブリル=0.007ミリモル））を、

0.14ミリモルのEDA（1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド）及び0.14ミリモルのDMA P（4-ジメチルアミノピリジン）を使用して、1.5mlのDMF（N,N-ジメチルホルムアミド）の中の0.14ミリモルのアルキルアミンと、

反応させることによって、アルキルフィブリルを製造した。化学反応は次の通りである：



この手順によって、異なる長さのアルキル鎖 ($n=5, 7, 9, 17$; $n=5$ の場合、 R は OH のみ) を有する幾つかの異なるアルキルフィブリルを製造した。反応系を室温で一晩攪拌した後、フィブリルを $3 \times 25 \text{ ml}$ の CH_2Cl_2 、 $3 \times 25 \text{ ml}$ の MeOH 、及び $3 \times 25 \text{ ml}$ の dH_2O によって激しく洗浄した。フィブリル中の窒素含量についての元素分析は反応の収率が $65 \sim 100\%$ であったことを示した。

酵素の吸着

酵素リパーゼ、トリプシン、アルカリ性ホスファターゼ及びアビジンはこの実施例のアルキルフィブリルの上に吸着によって固定化された。アルキルフタロシアンと酵素を室温で $3 \sim 4$ 時間混合した後、 5 mM の磷酸ナトリウム ($\text{pH } 7.1$) で $2 \sim 4$ 回洗浄した。アルカリ性ホスファターゼは C_8 -フィブリルおよび C_8OH -フィブリルの上に固定化された；トリプシンは C_6 -、 C_8 -、 C_{10} -及び C_{18} -フィブリルの上に；リパーゼは C_8OH -、 C_8 -、 C_{10} -、及び C_{18} -フィブリルの上に；そしてアビジンは C_8 -フィブリルの上に固定化された。結果は次の表に示されている：

酵 素	$\mu\text{mol/g}$ フィブリル	mg/g フィブリル
リパーゼ	6.8	816
トリプシン	1.7	40
アルカリ性ホスファターゼ	0.66	56
アビジン	not determined	

固定化酵素の反応速度特性は次の表に示されているように遊離酵素のそれに匹敵することが判明した：

酵 素	K_m (M)	K_{cat} (s^{-1})	K_{cat} / K_m ($M^{-1}s$)
リパーゼ	4.0×10^{-6}	0.040	0.99×10^3
リパーゼー フィブリル	3.6×10^{-6}	0.048	1.34×10^3
トリプシン	1.2×10^{-3}	4.8	4.17×10^3
トリプシンー フィブリル	7.9×10^{-3}	19.1	2.43×10^3

基質：リパーゼ 1, 2-O-ジラウリル-rac-グリセロ-3-グルタル酸
レゾルフィンエステル

トリプシン N-ベンエイル-L-アルギニン-p-ニトロアニリド

実施例 4 2

フィブリル-リパーゼによって触媒されたエステル化

(酪酸エチルの合成)

リパーゼを実施例 4 1 の手順に従って C_8 -アルキルフィブリルの上に固定化した。リパーゼフィブリルをまずジオキサンで洗浄し、それからジオキサンとヘプタンの混合物で洗浄し、そしてフィブリルをヘプタンの中に分散させるために最後にヘプタンで洗浄した。酪酸エチル (パイナップル-バナナの香りを与える食品添加物) を合成するために、 $6.2 \mu m$ のフィブリル固定化リパーゼを含有するヘプタンの中でエタノール (0.4 M) と酪酸 (0.25 M) を混合した。反応混合物を室温で攪拌した。収率は 7 時間で 60% であった。それは確立された方法を使用して反応混合物中のエタノール濃度を測定することによって測定した。反応および結果は図 8 に示されている。

実施例 4 3

フェニル-アルキル フィブリルの上への

アルカリ性ホスファターゼの固定化

フェニル-アルキル フィブリルの製造

2 つの異なる反応系によってフェニル-アルキル フィブリルを製造した。反

反応1は、20mgのカルボキシルフィブリル（約0.014ミリモルの-COOH基を含有する）を1.5mlのDMF（N,N-ジメチルホルムアミド）の中の0.28ミリモルの4-フェニルブチルアミン、0.28ミリモルのEDC及び0.28ミリモルのDMAP（4-ジメチルアミノピリジン）と混合した。反応2は、20mgのカルボキシルフィブリルを1.5mlのDMFの中の0.28ミリモルの6-フェニル-1-ヘキサノール、0.28ミリモルのDOC（1,3-ジシクロヘキシルカルボジイミド）及び0.28ミリモルのDMAPと混合した。反応は室温で一晩攪拌しながら行った。それから、フィブリルを3×25mlのCH₂Cl₂、3×25mlのMeOH、及び3×25mlのdH₂Oによって激しく洗浄した。

アルキル性ホスファターゼを固定化したフィブリルの製造

0.5mgのフェニル-アルキル フィブリルを400μlの0.05Mのトリス（pH8.6）の中に懸濁させ、そして20分間超音波処理した。これらフィブリルに150μlのアルカリ性ホスファターゼの溶液（5mMの磷酸ナトリウム緩衝液中で1.67mg/ml、pH7.0）を加え、そして混合物を室温で2時間回転させ、そして4℃で一晩貯蔵した。それから、フィブリルを600μlの5mMの磷酸ナトリウム緩衝液（pH7.1）で2回洗浄し、そして200μlの同じ緩衝液の中に懸濁させた。

触媒活性の測定による特異固定化アルカリ性ホスファターゼの定量

アルカリ性ホスファターゼは基質p-ニトロフェニルホスフェートと反応し、そして405nmの光を18,200M⁻¹cm⁻¹の吸光係数をもって吸収する着色化合物を放出する。この反応のためのアッセイ バッファー条件は10mMのトリス、1mMのMgCl₂、及び0.1MのZnCl₂、pH=8.4であった。反応は1mlの浅鉢の中で5μlのp-ニトロフェニルホスフェートのストック溶液（アッセイバッファー中の33%のDMSOの中の0.5M）と1mlのアッセイバッファー中の13μgのアルカリ性ホスファターゼ フィブリルとを混合することによって行った。405nmの吸光度の増加は 分間のタイムスキャンによってモニターした。それから、吸光係数18200M⁻¹cm⁻¹を使用して初期勾配から酵素活性度（μM/分）を算出した。

反応1からのフェニルフィブリルの上に吸着されたアルカリ性ホスファターゼについては、活性度は13 μ gのフィブリル当り6.95 μ M/分であった。反応2からのフェニルフィブリルの上に吸着されたアルカリ性ホスファターゼについては、活性度は13 μ gのフィブリル当り2.58 μ M/分であった。これら結果は同じアッセイ条件下で1 μ Mのアルカリ性ホスファターゼ当り879.8 μ M/分であると測定された既知濃度のアルカリ性ホスファターゼの活性度を除することによって、フィブリル1g当り、それぞれ、0.63マイクロモル（又は54mg）及び0.23マイクロモル（又は20mg）の活性なアルカリ性ホスファターゼに換算された。

実施例44

フェニルアルキルフィブリル上へのリパーゼの固定化

リパーゼを固定化したフィブリルの製造

0.5mgのフェニルアルキルフィブリルを50 μ lの5mMの磷酸ナトリウム緩衝液（pH7.1）の中に懸濁させ、そして20分間超音波処理した。これからフィブリルに350 μ lのリパーゼ溶液（5mMの磷酸ナトリウム緩衝液中の2.5mM, pH7.1）を加え、そして混合物を室温で5時間回転させ、そして4℃で一晩貯蔵した。それから、フィブリルを600 μ lの5mMの磷酸ナトリウム緩衝液（pH7.1）で3回洗浄し、そして200 μ lの同じ緩衝液の中に懸濁させた。

触媒活性の測定による特異固定化リパーゼの定量

リパーゼは基質1, 2-*o*-ジラウリル-*rac*-グリセロール-3-グルタル酸-*levo*-ソルフィンエステル（Boehringer Mannheim, 1179943）と反応し、そして572nmの光を60,000 $M^{-1}cm^{-1}$ の吸光係数で吸収する着色化合物を放出する。この反応のためのアッセイバッファー条件は0.1MのKH₂PO₄、pH=6.8であった。反応は1mlの浅鉢の中で5 μ lの基質ストック溶液（Thesitの中の50%ジオキサンの中の7.6mM）と1mlのアッセイバッファー中の13 μ gのアルカリ性ホスファターゼフィブリルとを混合することによって行った。572nmの吸光度の増加は10分間にわたるタイムスキャンによってモニターした。それから、吸光係数60,000 $M^{-1}cm^{-1}$ を使用して

初期勾配から酵素活性度 ($\mu\text{M}/\text{分}$) を算出した。

実施例 4 3 の反応 1 からのフェニルフィブリルの上に吸着されたリパーゼについては、活性度は $13\mu\text{g}$ のフィブリル当り $0.078\mu\text{M}/\text{分}$ であった。実施例 4 3 の反応 2 からのフェニルフィブリルの上に吸着されたリパーゼについては、活性度は $13\mu\text{g}$ のフィブリル当り $0.054\mu\text{M}/\text{分}$ であった。これら結果は同じアッセイ条件下で $1\mu\text{M}$ のアルカリ性ホスファターゼ当り $1.3\mu\text{M}/\text{分}$ であると測定された既知濃度のリパーゼの活性度を除することによって、フィブリル 1g 当り、それぞれ、 4.7 マイクロモル (又は 564mg) 及び 3.3 マイクロモル (又は 396mg) の活性なリパーゼに換算された。

実施例 4 5

アミノアルキル修飾フィブリルの上への

ホースラディッシュ ペルオキシダーゼ (HRP) の固定化

カルボン酸で官能化されたフィブリル (カルボキシルフィブリル) の製造

10.0g のグラフエイト性フィブリルを 450mL の濃硫酸の中にスパチュラで混合することによってスラリー化し、それから流入口/流出口と頭上攪拌機を備えた反応フラスコに移した。攪拌しながら、ゆっくりのアルゴン流の下で、室温で 24 時間かけて装填量 8.68g の NaClO_3 を少しずつ加えた。実験の全過程に発生する塩素蒸気は反応器からスウィープされて NaOH 水溶液トラップの中へ追い込まれた。実験の最後に、フィブリルスラリーを砕いた氷の上に注ぎ、そして真空濾過した。それから、フィルターケーキをソックスレー円筒濾紙に移し、そしてソックスレー抽出器の中で脱イオン水で数時間毎に新しい水に交換しながら洗浄した。洗浄はフィブリルの試料が新しい脱イオン水に加えられたときに水の pH を変化させなくなるまで継続した。それから、カルベキシル化フィブリルを濾過によって回収し、そして $5''$ 真空で 100°C で一晚乾燥した。収量は 10.0g であった。

HRP を固定化したフィブリルの製造

実施例 2 7 の方法を使用して $1,6$ -ジアミノヘキサンから製造したアミノフィブリル (1.2mg) をコンジュゲートバッファー (0.1M NaHCO_3 、 0.9% NaCl 、 $\text{pH}9.5$) に加え、そしてこの懸濁物を 20 分間超音

波処理した。それから、フィブリルをエッペンドルフ管の中でコンジュゲートバッファーによって2回洗浄し、そして400 μ Lのコンジュゲートバッファーの中に懸濁させた。懸濁物の50 μ Lアリコート(0.14mgのフィブリル)を、50 μ Lの脱イオン水の中に溶解した4.0mgの活性化HRP(ピアス、IL州ロックフォード在)と混合し、そして得られた懸濁物を4℃で一晩回転させた。HRPをコンジュゲートされたフィブリルをエッペンドルフ遠心管の中で次の溶液の組み合わせにより大規模に洗浄した:コンジュゲートバッファー、洗浄緩衝液(20mMの KH_2PO_4 、0.45% NaCl、pH6.2)、0.03~0.1%のトリトンX-100を含有する洗浄緩衝液、及び50%のエチレングリコールを含有する洗浄緩衝液。対照として、活性化HRPを含む同一のマニプレーションをブレン(非誘導体化)フィブリルをもって実施したところ、アミノフィブリルへのHRPの結合が実際に特異共有結合であったことを示した。

触媒活性の測定による特異固定化HRPの定量

大規模な洗浄は非特異結合した酵素の大部分を除去した。固定化活性HRPは過酸化水素と色素原基質2,2'-アジノービス(3-エチルベンズチアゾリン-6-スルホン酸)ニアンモニウム塩(ABTS)を使用しての基質のターンオーバーによって定量化された。HRPの触媒活性度は100 μ Mの過酸化水素と30 μ MのABTSを基質として使用して414nmにおいて分光測定でモニターした。これらの予備研究においてアミノフィブリルに結合した酵素の全量はフィブリル1g当り0.0230 μ molのHRPであった。これに比べて対照(ブレンフィブリル)はフィブリル1g当り0.0048 μ molのHRPが非特異に結合した。引き算すると、共有結合で(特異結合した)HRPの量はフィブリル1g当り0.0182 μ molであった。

実施例46

固定化された酵素阻害剤を担持するフィブリル上での

アルカリ性ホスファターゼ(AP)と β -ガラクトシダーゼ(β G)の

アフニティークロマトグラフィーによる分離

アルカリ性ホスファターゼ阻害剤フィブリルの製造

AP-阻害剤で修飾されたフィブリルの製造はブレナ(Brenne)らの方法に基

づいた(Brenna et al., (1975), Biochem. J., 151: 291-296)。

カルボキシル化フィブリルを使用して、上記の実施例50に記載したように、NHSエステルフィブリルを製造した。4mLのアセトンにNHSエステルフィブリル(114mg)を懸濁させ、そして(フィブリル1g当り0.7meqのNHSエステルとの推定に基づいて)10当量のチラミン(tyramine)を添加した。乾燥トリエチルアミン(10当量)を添加し、そして混合物を室温で3時間攪拌した。チラミルフィブリルを焼結ガラスの濾過漏斗の中で真空下で最初にアセトンによって、それから大規模に脱イオン水によって洗浄した。

4-(p-アミノフェニルアゾ)-フェニルアルソン酸(66mg)を4mLの1NのHClの中に懸濁させた。懸濁物を4℃に冷却しそして0.36mLの0.5MのNaNO₂とゆっくり混合した。15分後、アルソン酸/NaNO₂混合物を、10mLの0.1MのNaCO₃(pH10.0)の中に懸濁されたチラミルフィブリルに加えた。反応混合物(pH~10)を4℃で一晩攪拌した。それから、フィブリルを0.1MのNa₂CO₃(pH10.0)、8Mのグアニジン塩酸塩、25mMのNaOH、そして流出液が透明になるまで水による、連続洗浄によって処理した。AP阻害剤フィブリルの中のヒ素についての元素吸光分析をガルブレイス研究所(TN州ノックビル)によって行った。砒素1原子を含有している側鎖を含むAP阻害剤フィブリルは原子吸光分析によって何らかの砒素の含量が0.4%であることが判明した。これは推定される初期COOH基のほぼ10%がこの多段階合成においてAP阻害剤に転化されたことを表している。フィブリルの表面積を基準にすると、これは表面積500平方オングストローム毎に1つの阻害剤分子(酵素結合サイト)が存在するであろうことを意味している。

β-ガラクトシダーゼ阻害剤フィブリルの製造

p-アミノフェニル-β-D-チオガラクトシダーゼ(TPEG)誘導フィブリルを、ウルマンの方法(Ullman, (1984) Gene, 29: 27-31)に基づいて製造した。2.24mgのTPEGを、0.2mLの脱イオン水の中の8mgのカルボキシル化フィブリルに加えた。懸濁液のpHを0.1MのHClで4.

0に調節し、そして15mgのEDACを加えた。混合物をpH4.0で、室温で

3時間攪拌した。エッペンドルフ管の中での急速遠心分離によって反応を停止し、そして液体を除去した。 β -ガラクトシダーゼ阻害剤フィブリルを脱イオン水中への再懸濁と遠心分離によって5回洗浄した。

アフィニティークロマトグラフィー

アルカリ性ホスファターゼ (AP) (大腸菌 (*E. Coli*, Type III) から、シグマ ケミカル社 (Sigma Chemical Co.)、MO州セントルイス) と、 β -ガラクトシダーゼ (β G) (大腸菌 (*E. Coli*) から、カルビオケム (Calbiochem)、CA州ラジョラ) の混合物は、エッペンドルフ ミクロ遠心管の中で、AP阻害剤フィブリル又は β G阻害剤フィブリルのどちらかの上で、バッチ関連で分離された。アフィニティー分離のために、AP (一般に約10ユニット) と β G (一般に約280ユニット) の両方を含有するローディング バッファー (20mM トリス、10mMのMgCl₂、1.6MのNaCl、10mMのシステイン、pH7.4) の溶液1.0mLを、0.8~11.0mgのAP又は β Gどちらかの阻害剤フィブリルに加えた。得られた懸濁物を穏やかにかきまぜ、それから室温で2時間回転させた。酵素結合の後に、フィブリルを卓上遠心分離器で簡単な遠心分離によって沈殿させ、そして未結合酵素を含有する液相を引き出し、そして酵素検定のためにとっておく。ローディング バッファーによる洗浄 (7×1.0mL) は、バッファー添加、穏やかなかきまぜ、15分の保留、簡単な遠心分離、及びパスツール ピペットによる溶媒撤収の繰り返しによって行った。7回洗浄後に、同じマニプレーションを、 β G阻害剤フィブリル (100mMのホウ酸ナトリウム、10mMのシステイン、10mMのシステイン、pH10.0) またはAP阻害剤フィブリル (40mMのNaHPO₄、10mMのトリス、1.0mMのMgCl₂、0.1mMのZnCl₂、pH8.4) どちらかにとっての適切な溶出緩衝液をもって繰り返し実施した (5×1.0mL)。

全ての分画 (未結合酵素、洗浄液、及び溶出液) をAPと β G両方の活性度について検定した。アルカリ性ホスファターゼ活性度は500 μ Mのp-ニトロフェニルホスフェート (PNPP) の加水分解速度を410nm ($\Delta\epsilon=18,000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) において分光測定で監視することにより測定した。アルカリ性ホ

スファターゼ活性度測定は10 mMトリス、1.0 mMの MgCl_2 、および0.1 mMの ZnCl_2 、pH 8.4、の中で行った。 β -ガラクトシダーゼは2-ニトロ-ガラクト- β -D-ピラノシド (ONPG) を加水分解する酵素の能力を分光測定で監視することにより検定した。5.0 mMのONPGの、 β -ガラクトシダーゼで触媒された加水分解の初期速度を、10 mMトリス、10 mMの MgCl_2 、1.6 Mの NaCl 、10 mMのシステイン、pH 7.4の中で、405 nm ($\Delta\epsilon = 3500 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) で測定した。

AP阻害剤フィブリルおよび β G阻害剤フィブリルどちらでも、APと β Gの混合物を加えた。特異結合容量の測定を容易にするために、添加酵素の濃度は固体化阻害剤濃度の大きな過剰の中にあつた。AP阻害剤フィブリルでは、フィブリルのg当り0.550 μmol のAPが結合した（これに対して β Gの非特異結合はフィブリルのg当り0.020 μmol ）。 β G阻害剤フィブリルでは、容量はフィブリルのg当り0.093 μmol の β Gであると測定された（これに対してAPの非特異結合はフィブリルのg当り0.012 μmol ）。アフィニティークロマトグラフィー実験の結果は図9と図10に示されている。AP阻害剤フィブリルは評価できるほどには β Gを結合しなかった、しかしAPを結合した、これはバッファーに40 mMのホスフェート、競合阻害剤、が添加されたときには特に溶出された（図9）。 β Gによって誘導されたフィブリルは実質量のAPを結合しなかった、しかし β Gを結合した、これは酵素阻害剤の提携を弱めるためにpHを高くしたときには特に溶出された（図10）。これら結果は阻害剤がフィブリルにうまく共有結合されたこと、固定化阻害剤が大きな分子に近づき得たこと、阻害剤が特異酵素結合のために利用可能であったこと、及び特に溶離されたときに酵素が活性のままであったことを示している。図10では、 β G阻害剤フィブリルからの β Gの連続浸出があるようである。AP阻害剤フィブリルによる図9では同じ現象がみられないので、これはフィブリルの欠点というよりむしろ自然の弱い酵素-阻害剤親和力の結果であるらしい。

2. 抗体の固体支持体としての官能化ナノチューブ

官能化されたナノチューブの上に抗体を固定化することができること、及びかかる抗体ナノチューブはそれらの重量当りの高い表面積、電気伝導性、及び化学

的及び物理的安定性によって多数の応用のための独特の利点を有することが判明した。例えば、抗体ナノチューブは分子分離のためのアフィニティー試薬として使用できる。抗体ナノチューブはまた、ECL系免疫検定のような診療用免疫検定を含めて分析の応用のためにも有効である。

抗体は共有結合又は非共有結合どちらかによって固定化されることができる。共有結合固定化は様々な方法によって行われた；抗体のカルボキシレート基の反応性アミノ化、カルボキシル化フィブリルのNHSエステル活性化（上記実施例27を参照）、及びチオール化フィブリル又はマレイミドフィブリルと還元された又はマレイミド修飾された抗体との反応（上記の実施例23及び25参照）が挙げられる。

抗体をナノチューブに付着させるための最善の方法はそれらが使用されるべき用途に依存する。分離用には、好ましい方法は非共有結合の吸着であるかも知れない、何故ならば、タンパク質結合の容量がこの方法のためには最も高いと思われるからである。フィブリルの電気伝導度が重要であるかも知れない、ECLを包含する方法のためには、共有結合方法が好ましいであろう（アルキル付加物は弱い電氣的導体でありフィブリルを絶縁することが期待できる）。還元性アミノ化はフィブリルに抗体を共有結合するための最善の方法であるらしい、何故ならば、この方法を使用することによって、抗体はそれらの結合サイトが（フィブリルから遠い）外側を向くように正しく配向されるからである。

3. 官能化されたナノチューブへのNAD⁺の付加

NAD⁺のような補助因子は酵素補助因子に結合するタンパク質の生体特異アフィニティークロマトグラフィー用の固体支持体に付加されそして固体支持体として使用することができる。例えば、NAD⁺フィブリルはデヒドロゲナーゼの純化のための固体支持体として使用されている。フィブリルを使用する主な利点はそれらの大きな量の接近可能な表面積である。高い表面積を有するアフィニーマトリックスは高い潜在容量故に望ましい。フィブリルはゆるい分散物であるか又はカラム若しくはマット状に固定されるかどちらでもよい。

実施例47

NAD⁺フィブリル上のデヒドロゲナーゼの

アフィニティークロマトグラフィーによる分離

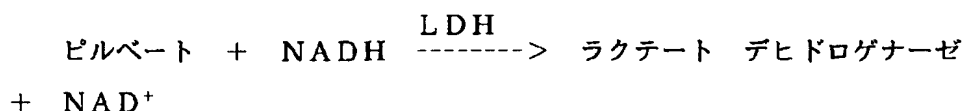
NAD⁺フィブリルの製造

フィブリルを実施例14及び15に従ってヒドロキシル基を導入するために酸化した。重炭酸ナトリウム溶液(3ml、0.2M、pH8.6)の中のフィブリル(31mg)の懸濁物に、N⁶-[アミノヘキシル]カルバモイルメチルニコチンアミド アデニン ジヌクレオチド リチウム塩溶液(25mg)シグマから入手、5mlの重炭酸ナトリウム溶液の中を加えた。反応混合物を室温で一晩攪拌した。生成物フィブリルを水、N,N-ジメチルホルムアミド、及びメタノールによって大規模に洗浄した。元素分析データは生成物フィブリルが窒素分析によってフィブリルのg当り130ミリモルのNAD分子を、そして燐分析によってフィブリルのg当り147ミリモルのNAD分子を含有したことを示した。アミノ基の中に末端停止するリンカーを有するその他のNAD⁺類似体はNAD⁺フィブリルを製造するのに使用できる。

アフィニティー分離

NAD⁺固定フィブリル(0.26mg)及びブレンフィブリル(0.37mg)を磷酸ナトリウム(1ml、0.1M、pH7.1)の中の0.1%のポリエチレングリコール(PEG, MW1000)と一緒に40℃で30分間超音波処理し、それから40℃で30分間インキュベートした。フィブリル懸濁物を遠心分離し、そして上澄みを除去した。フィブリルを、L-ラクテート デヒドロゲナーゼ(LDH)の、0.1%のPEG(1000) 磷酸ナトリウム緩衝液(250 μ l、LDH溶液と0.1%のPEG緩衝液の比は1:1)の中の混合物と一緒に4℃で90分間インキュベートした。それから、混合物を室温で30分間平衡化した。フィブリルのLDHとのインキュベーションの後で、フィブリルを磷酸ナトリウム緩衝液中の0.1%のPEG(1000)によって洗浄し(5 \times 1000 μ l)、そして洗浄毎に15分間の回転を採用した。LDHは0.1%のPEG(1000) 磷酸ナトリウム緩衝液(5mM、3 \times 1000 μ l)の中の5mMのNaDHによって溶出された。各溶出洗浄中に、フィブリルを15分間回転させた。溶出液中のLDH活性度はビルビン酸塩の還元中の340nmにおける吸光度変化を測定することによって検定した。検定混合物は磷酸ナトリウム緩衝液

(980 μ l)中の0.1%のPEG (1000)、ピルビン酸塩 (3.3 μ 、100mMストック溶液)、及び各溶出画分 (16.7 μ l)を含有していた。酵素反応は下記のように示される：



結果はNAD⁺固定化フィブリン上のLDHの容量がフィブリン当り484ナノモルであり、そしてブレンフィブリン (対照) 上のLDHの容量がフィブリン当り3.68ナノモルであることを示した。LDHの非特異結合は5.6%であった。

4. タンパク質合成用の固体支持体としての 官能化されたナノチューブ

実施例48

タンパク質合成のための固体支持体としての 官能化されたナノチューブ

アミノフィブリン (400mg) と塩化メチレン (20ml) 中の4- (ヒドロキシメチル) -フェノキシ酢酸懸濁物 (255mg, 1.4ミリモル) との混合物に、1-エチル-3- (3-ジメチルアミノプロピル) カルボジイミド (EDC, 268mg, 1.40ミリモル) と1-ヒドロキシベンゾトリアゾール水和物 (HOBt, 189mg, 1.4ミリモル) を加えた。反応混合物をアルゴンガス下で室温で一晩攪拌した。生成物フィブリンを塩化メチレン、メタノール及び水によって大々的に洗浄し、それから真空下で乾燥してフィブリンを得た。N, N-ジメチルホルムアミド (DMF, 2ml) と塩化メチレン (8ml) 中のフィブリンの懸濁物に、N- (9-フニオレニルメトキシカルボニル) -O-ブチル-L-セリン (215mg, 0.56ミリモル)、1, 3-ジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC, 115mg, 0.56ミリモル) 及び4-ジメチルアミノピリジン (DMAP, 3.4mg, 0.028ミリモル) を加えた。反応混合物を室温で一晩攪拌し、そして生成物フィブリンをDMF中の20%ピペリジン (5×40ml、毎回1分浸漬) で洗浄した。それから、生成物フィブリンをDMF、水、水酸

化ナトリウム (1 N)、メタノールおよび塩化メチレンで大々的に洗浄した。生成

物 フィブリンーハンドルーセリン(O⁺)—COOH (ニンヒドリン試験は+) を真空乾燥した。ジペプチド合成のために、同じ手順を使用してアルギニンを付加した。フィブリンーハンドルーセリン(O⁺)—アルギニン (N^B—2, 2, 5, 7, 8—ペンタメチルクロマン—6—スルホン) のアミノ酸分析データは、それがフィブリンの g 当り 6.5 μ モルのセリンとフィブリンの g 当り 7.6 μ モルのアルギニンを含有することを示している。他のどのペプチドも同じ方法によって製造できる。

5. ビオチン化されたフィブリン及び ビオチン化されたアルキルフィブリン

フィブリン表面をビオチン化(biotinylation)によって又はアルキル化とビオチン化によって官能化することができる。かかる修飾を含有するフィブリンはそれから、ストレプトアビジンビーズやストレプトアビジン酵素のようなあらゆるストレプトアビジン コンジュゲート基質を結合できる。

フィブリンはその大きな表面積故に固体担体として大きな利点を呈する。強磁性につくこともできるビーズは分離検定に極めて有効である。ここで説明するビオチン化フィブリンはフィブリンとビーズの両方の利点を組み合わせる。ビオチン化アルキルフィブリンは同じコンセプトの拡大であるが、アルキルフィブリンの追加のタンパク質吸収特性を示す。

ストレプトアビジン—及びビオチン—で被覆されたフィブリンは診療に使用でき、そして電気化学的発光アッセイのようなアッセイ用にキャプチャー剤として使用することができる。

この発明の新規特徴は1つのフィブリンに2つの固体担体を組み合わせて二官能性フィブリンを創造することにある。さらに、開示された方法はビーズのための表面積を増大させ、及びフィブリンの磁化を強くする。

実施例 4 9

ビオチン化フィブリンの製造

ビオチン化フィブリンは、実施例 16 に記載した如く製造したアミノフィブリン 2.4 mg と、8.15 の pH の、0.2 M の NaHCO_3 緩衝液中の 9 mg の NHS エステル長鎖ビオチンを混合することによって製造した。混合物は室温で 4

時間回転させ、そして同じ緩衝液で 2 回洗浄した。

実施例 50

ビオチン化アルキルフィブリンの製造

ビオチン化アルキルフィブリンは 2 段階反応によって製造した。第一段階で、4.25 mg の二官能性フィブリン（アミノとカルボキシルの両方を含有する）と 25 mg の NHS エステル長鎖ビオチンを混合した。フィブリンを洗浄し、そして真空乾燥した。

第二の反応は、4 mg のビオチン化された二官能性フィブリンを、11 mg の EDC（1-エチル-3,3-ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド）、7.5 mg の DMAP（4-ジメチルアミノピリジン）及び 0.5 ml の DMF 中の $10 \mu\text{l}$ の $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$ と混合することによって行った。混合物を室温で一晩攪拌した。最終のビオチン化されたアルキルフィブリンは塩化メチレン、メタノール、及び脱イオン水によって洗浄した。

実施例 51

アッセイの固体支持体としてのビオチン化フィブリン

ビオチン化フィブリンはストレプトアビジン-ビオチンまたはアビジン-ビオチンの相互作用を必要とするフォーマットを包含するアッセイに使用できる。ビオチン化フィブリンは、たとえば、ストレプトアビジンによって更に誘導体化されることができた。フィブリンに共有結合したビオチン（実施例 50 参照）はストレプトアビジンと強い非共有結合の相互作用を形成することができた。ストレプトアビジンは 4 当量結合サイトを有するテトラマー性タンパク質であるので、ビオチン化フィブリンに結合したストレプトアビジンは別のビオチン化された試薬が結合できる未占有の結合サイトをほぼ確実に有していたであろう。従って、ビオチン化フィブリンはストレプトアビジン被覆フィブリンに転化されたであろう。

かかるフィブリル-ビオチン-ストレプトアビジン (FBS) 支持体を使用して行うことができる多数の分析試験が存在する。たとえば、ビオチン化された抗アナライト抗体は (抗体がアナライト (analyte) に対して複合化される前又はされた後どちらかに) FBS 支持体上に捕獲されることができた。ビオチン化され

た抗アナライト抗体は十分に確立されている。かかる検定としては、関心あるアナライトが抗アナライト抗体への結合に関して標識アナライトと競合する競合検定が包含される。フィブリルで固体化された抗体から、遊離 (未結合) アナライトと遊離 (未結合) 標識アナライトを洗浄できる。洗浄工程は遠心分離や濾過や磁石への吸引によるを包含する通常実施の手法によって溶液相から物理的に分離されるフィブリルに依存する。

競合検定の外に、サンドイッチ型免疫検定がFBS支持体上で実施できた。サンドイッチ免疫検定は診療の分野で十分に知られている。かかる検定は同時に2つの抗体によって結合されるアナライトを包含し; その第一の「主」抗体は例えばビオチンで標識されることによって固体表面に捕獲され、そしてその「第二」抗体は固体表面によって捕獲されないがレセプター基によって標識される。かかるサンドイッチ検定はフィブリルを固体キャプチャー支持体として使用しそれによってフィブリルが前段に記載のように捕獲される、で実施することができた。従って、かかる検定においては、フィブリルは既に共有結合でビオチンに結合しており、ビオチンはストレプトアビジンに結合され、ストレプトアビジンは転じて、ビオチン化された主抗体に結合され、ビオチン化された主抗体はアナライト (存在するならば) に結合され、アナライトは標識された第二抗体に結合されたのあろう。

同様に、DNAプローブアッセイはFBS支持体を使用して実施することができた。ビオチン化された一本鎖DNAはFBS支持体に結合されることができ、そして競合ハイブリッド化が相補性一本鎖アナライトDNA分子と相補性標識オリゴヌクレオチドの間に行われることができる。

別のタイプのビオチン化フィブリル、ビオチン化アルキル化フィブリル、は免疫検定及びDNAプローブ検定に使用できる。実施例51に記載されているよう

に、二官能性フィブリルは一方のタイプの官能基にビオチンが共有結合しそしてもう一方のタイプの官能基にアルキル鎖が共有結合することによって修飾されることができる。得られたアルキル化されておりビオチン化されているフィブリルは、(ビオチンによって) ストレプトアビジン又はアビジンとの特異会合に及び(アルキル鎖によって) タンパク質の吸着用に、両方に使用できる。

アルキルフィブリルは他の固体支持体、例えば、ストレプトアビジン被覆磁性ビーズ、と組み合わせても使用できた。かかるビーズの上のフィブリルの一つの利点は(単位重量当りの) はるかに高い表面積を有することである。従って、フィブリルが磁性ビーズの外表面に付着できるならば、これはビーズの表面積によって結合容量を劇的に改良するであろう。アルキル化ビオチン化フィブリルはストレプトアビジン被覆ビーズと混合することができ、その結果、高い親和力のストレプトアビジン(ビーズ) - ビオチン(フィブリル) の相互作用を、従って極めて高い表面積をもつフィブリル被覆ビーズを生じることが考えられる。アルキルフィブリルはタンパク質を吸着によって結合できるので、フィブリル被覆ビーズはストレプトアビジンや抗体を包含する吸着されたタンパク質によって更に誘導体化されることができた。上記の通り、ストレプトアビジンまたは抗体で被覆されたフィブリルは免疫検定およびDNAプローブ検定に使用できる。従って、フィブリル被覆ビーズは与えられたアッセイにおいて同じ結果を与えるのにより少ないビーズしか必要とされないようにその表面積を劇的に増大させることによってビーズの性質を改良することができた。

6. 三次元構造

酸化フィブリルは非酸化フィブリルよりも容易に水性媒体中に分散される。中位乃至大きい気孔(> 2 nmの気孔)を有する安定な多孔性の三次元構造体は触媒又はクロマトグラフィー用支持体として非常に有効である。フィブリルは個性化された規準で分散できるので、架橋結合によって安定化されているよく分散された試料はかかる支持体を構成することを可能にする。官能化されたフィブリルはこの応用のために理想的である、何故ならば、それらは水性または極性媒体の中に容易に分散され、かつ官能基が架橋結合点を提供するからである。加えて

、官能基は触媒サイトまたはクロマトグラフィーサイトを支持する点を提供する。最後の結果はその全表面積が活性剤を支持するための官能性サイトをもって入手できる硬質の三次元構造である。

触媒におけるこれら支持体にとっての代表的な応用は、含浸によってつくられる金属触媒、例えば、貴金属水素化触媒、のための高度に多孔性の支持体としての使用を包含する。さらに、構造体の非常に高い気孔度と組み合わせられた官能基

を介しての支持体へのつなぎとめによって分子状触媒を固定する能力は、不均質な仕方で均質反応を行うことを可能にする。つなぎとめられた分子状触媒は均質反応器に似た連続液相の中では本質的に懸垂状態にあり、そこでは均質反応に沿って選択性及び速度に有利な使用を可能にする。しかしながら、固体支持体につなぎとめられていると、活性剤、多くの場合は、非常に高価な触媒、の容易な分離および回収を可能にする。

これらの安定で硬質な構造は以後、不斉合成又はアフィニティークロマトグラフィーのような非常に難しい反応を行うことも、適するエナンチオマー触媒または選択性基質を支持体に付着させることによって、可能にする。メタローPc又はメタローポルフィリン錯体を通しての誘導体化はまた、金属イオンに結合した配位子の回収、及び更には、二次誘導体を通して配位子に結合する何らかの分子を見込んでいる。例えば、官能化されたフィブリルの三次元構造が電極又は電極の部分であり、そして官能化がCo(II)Pcの吸着から生じた場合には、ニコチン酸の存在下でのCo(II)からCo(III)への電気化学的酸化は垂下基としてカルボン酸を有する非不安定性のCo(III)-ピリジル錯体を生成するであろう。適する抗原、抗体、触媒性抗体、またはその他のサイト特異性トラッピング剤の結合はそうでなければ極めて達成し難い分子の選択分離（アフィニティークロマトグラフィー）を可能にする。吸蔵物質を除去するために電極を洗浄した後、目標分子を含有するCo(III)錯体を電気化学的に還元して不安定性Co(II)錯体を回収することができる。それから、目標分子を含有するCo(II)上の配位子は不安定性Co(II)配位子の質量作用置換によって回収でき、それによって、そうでなければ遂行が非常に困難であるか又は高くつく分子（例えば、キラル薬剤）

の分離又は回収が行われる。

以前は、官能化されたカーボンフィブリルマットの内部の気孔は小さすぎて有意な流れを許さず従って電極を通る流れとして有効でないと考えられた。また、電極材料としての粒子状炭素又はその他の炭素系材料（例えば、網状化無定形炭素（Reticulated Vitreous Carbon）（RVC））の使用に関連した問題も存在した。たとえば、多孔性電極材料はその場で生成できず、非常に密に充填されそしていて空隙や溝を形成し、溶媒やフロー条件の変化の間に寸法不安定性にさらさ

れ、そして非常に薄い電極の形成が不可能であった。官能化されたカーボンフィブリルをフローセルの電極として使用すると、かかる問題が解決された。

フローセルの電極として使用される、官能化されたカーボンフィブリルはエレクトロ活性剤による表面処理によって改質されることができる。フィブリルは触媒又は電極触媒の作用をする又はフロー物質の望まない反応又は吸着を抑制する働きをする、エレクトロ活性でない材料によっても改質されることができる。

電極を通してのこれらの流れはエレクトロクロマトグラフィー、電気化学的に変調されたアフィニティークロマトグラフィー、エレクトロ合成、又は電気化学的に変調されたイオン交換クロマトグラフィーのような分離技術に有効である。それらはカーボンフィブリルマット上に捕捉された物質を分離及び／又は分析する診断装置にも使用できる。

官能化されたカーボンフィブリルとその他のファイバー又は粒状物から構成された複合マットも使用できる。これらファイバー又は粒状物はカーボンフィブリルマットの最終の気孔度又は電導度を変更するために懸濁物に添加できる。

実施例 5 2

鉄フタロシアニン官能化フィブリルの フローセルの電極としての用途

鉄(III)フタロシアニン-ビス-ピリジン ($\text{FePc}-2\text{Py}$) (アルドリッチ 41, 016-0) を吸着させることによってグラファイト性フィブリルを改質した。0.403 g のフィブリルと 0.130 g の $\text{FePc}-2\text{Py}$ を 150 ml の無水エタノールに加え、そして 450 ワット ブランソン プローブ超音波

装置で5分処理した。得られたスラリを47mmのミリポア膜真空フィルターマニホルドで0.45μmのMSIナイロンフィルターで濾過し、水洗し、そして真空オーブンで35℃の一晚乾燥した。最終重量は0.528gであり、それは実質的吸着を表していた。濾液の分光分析は残存するFePc-2Pyを説明していた。

5mgのFePc-2Py修飾フィブリルを10mlの脱イオン水の中に超音波装置で分散させた。分散物を25mmの膜フィルターマニホルドの中に保持された一枚の200メッシュのステンレス鋼(SS)の網スクリーンの上に堆積させ、そ

して室温で乾燥した。SSスクリーンで支持されたフィブリルマットの直径0.5インチの円盤を、アーチパンチを使用して切り取った。

電気化学フローセルは、13mmのプラスチックの、スウィニイ(Swinney)タイプの膜フィルターホルダーから、その膜支持体の上に直径13mmの円盤の金の網(400メッシュ、Ladd Industries)を置き、そしてそのスクリーンを、3電極ポテンショスタット回路の作業電極として外部接続のためにフィルターホルダーの壁を通して送られたテフロン(登録商標)熱収縮チューブで絶縁されている白金線と電氣的に接触させることによって、構成された。金の網は外側の縁の周辺に少量のエポキシを用いてその場に固定された。金箔片をリング状に、そしてフィルターホルダーの底の下流の部分に入れ、そして3電極ポテンショスタット回路の対向電極として接続のために絶縁された白金リード線と接続した。1MのHClの中で電気化学的に酸化された直径0.5mmの銀線のリングを、参照電極として接続のために絶縁されたリードと共にフィルターホルダーの上部に入れた。

FePc-2Pyで修飾されたCNの直径0.5インチの円盤をフローセルの中に入れ、それから、EG&G PAR273ポテンショスタットの適切なリードに接続した。フローセルは、pH7.0の0.1M磷酸カリウム緩衝液中の0.1MのKClを充填したセージ(Sage)シリングポンプに接続した。20mv/秒の電圧走査速度でサイクリックボルタモグラム(CV)をノーフロー(静止)及びフロー(0.4ミル/分)のもとで記録した(図6参照)。CVはフローが有っても無くてもほぼ同じであり、そしてFePc-2Pyを含有する表面と矛盾

しない2つの連続した可逆の酸化と還元を示した。流体フロー条件下でのレドックスピークの持続性は、FePc-2Pyがカーボンフィブリルに強く結合していること及び鉄フタロシアニン修飾フィブリルがフロースルー電極材料として十分に作用することを実証している。

三次元構造の別の例はフィブリル-セラミック材料である。

実施例 5 3

アルミナーフィブリル組成物 (185-02-01) の製造

1 g の、硝酸で酸化されたフィブリル (185-01-02) を、100 cc の脱イオン水の中にU/Sジスイнтеグレーターを使用して高度に分散させた。こ

のフィブリルスラリーを90℃に加熱し、そして20 ccのプロパノールの中に溶解した0.04モルのアルミニウムトリブトキシドの溶液をゆっくり添加した。還流を4時間継続し、その後で冷却器を外してアルコールを飛ばした。30分後に冷却器を戻してスラリーを100℃で一晩還流した。一様な外観を有する黒色ゾルが得られた。このゾルを室温に冷却し、そして1週間後に、平滑な表面をもつ黒色ゲルが形成された。このゲルを空気中で300℃に12時間加熱した。

このアルミナーフィブリル複合体をSEMによって試験した。亀裂表面の顕微鏡写真はゲルの中のフィブリルの均一分散を示していた。

実施例 5 4

シリカーフィブリル組成物 (173-85-03) の製造

2 g の、硝酸で酸化されたフィブリル (173-83-03) を、200 cc のエタノール中に超音波処理を使用して高度に分散させた。このスラリーに、50 cc のエタノール中に溶解した0.1モルのテトラエトキシシランの溶液を室温で加え、その後で3 cc の濃塩酸を加えた。この混合物を85℃に加熱し、そしてその温度に保って容量を100 cc まで減少させた。混合物を冷却し、そして放置して黒色固体ゲルを生成した。このゲルを空気中で300℃で加熱した。

このシリカーフィブリル複合体をSEMによって試験した。亀裂表面の顕微鏡写真はゲルの中のフィブリルの均一分散を示していた。

他のセラミック、例えば、ジルコニア、チタニア、希土類酸化物、及び三元酸

化物をもつても、類似の調製物を製造できる。

7. ポリマービーズ上へのグラファイト性ナノチューブの導入

ポリマービーズ、特に Fe_3O_4 コアを含有する磁性ポリマービーズ、例えば、ダイナル(Dynal)及びその他で製造されたもの、は診断における多数の用途を有している。しかしながら、これらのビーズはナノチューブから入手可能なものに比べて低い表面積を有することに煩わされる。官能化されたフィブリルはビーズの表面上に導入することができ、それはポリマー/フィブリル複合体を分離又は分析用途（例えば、電気化学的発光アッセイ、酵素の固定化）の固体支持体として使用することを可能にする。

実施例 5 5

官能化ビーズへの官能化フィブリルの付着

7. 5mgの磁性のトシル活性化されたダイナビーズM-450 (30mg/ml) ビーズ（ダイナル、ノールウェーのオスロ在）を0.1Mのリン酸ナトリウム緩衝液、pH 7.5、で3回洗浄した。それから0.9mlの0.1Mのリン酸ナトリウム緩衝液、pH 8.4、をビーズに加え、そして0.1mlのアミンフィブリルを加えた。混合物を室温で16～24時間回転させた。

顕微鏡写真で観察したとき、フィブリルの表面上にビーズを有するフィブリルのかたまりは明らかであった。

以上の説明および実施例によって例証されているように、本発明はナノチューブの広く様々な処方及びその用途における応用を有している。

使用されている用語及び表現は記述の表現として使用され、限定の表現として使用されているのではなく、またかかる用語又は表現の使用においてはその一部として示され記述されている特徴の何らかの均等物を排除することを意図しておらず、本発明の思想の範囲内で様々な変更が可能であることが認識される。

917-101 GFへのBSAの結合

【図1】

上澄み中のBSAの測定 (対グラフトフィブリル)
OD 562nm, (uBSA 測定)

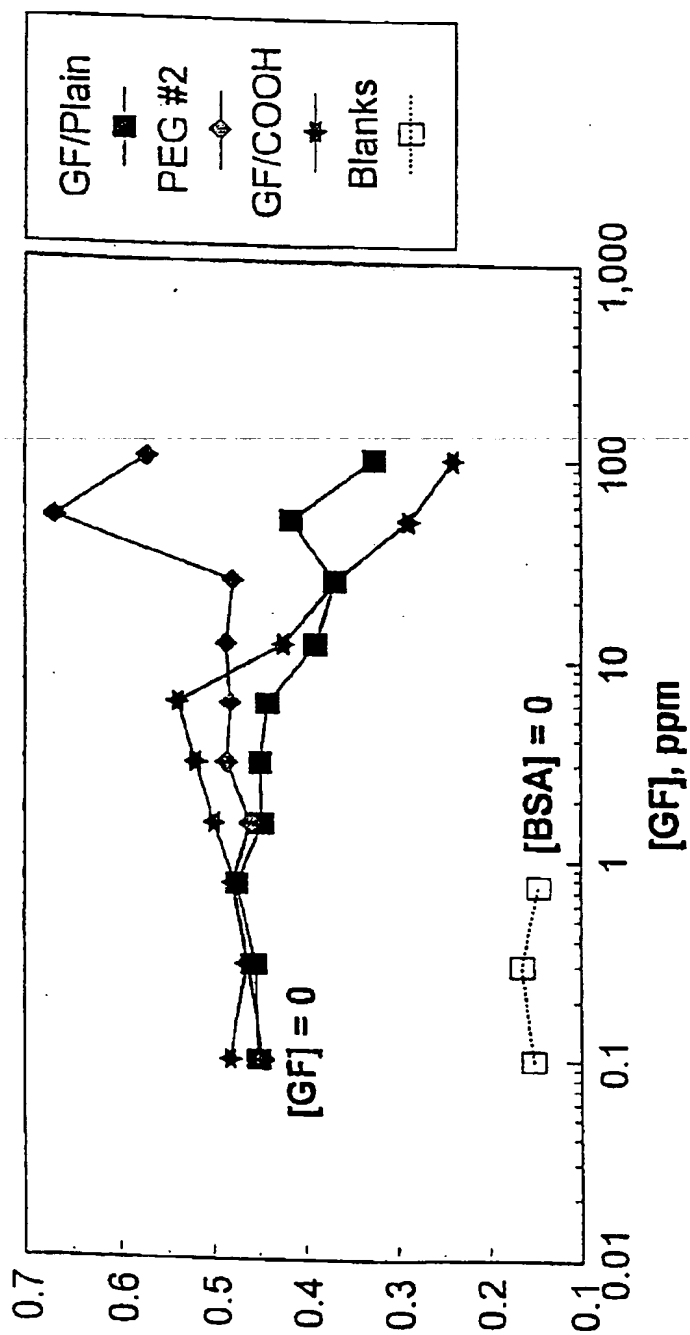


Fig. 1

917-105 GFへのβ-ラクトグロブリンの結合

【図2】

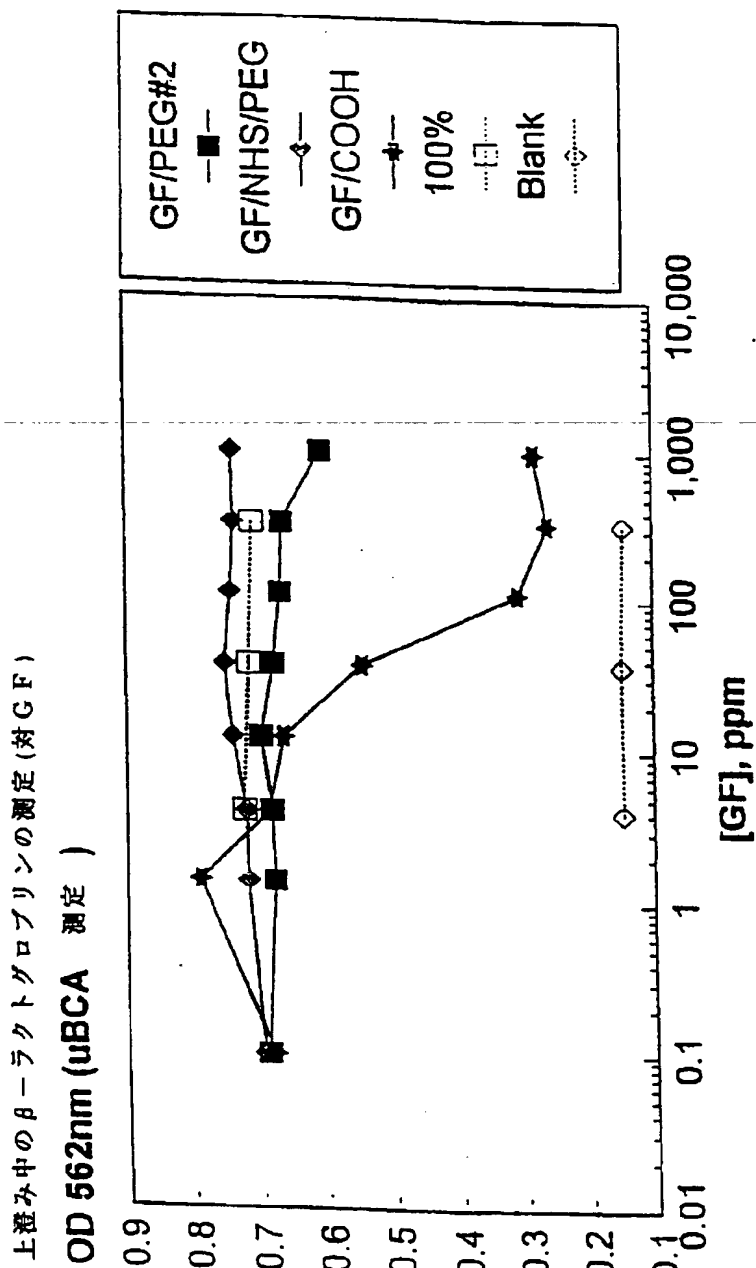


Fig. 2

【図 3】

第三アミノブチリカルラム上でのウシ血清アルブミンの溶出プロフィール

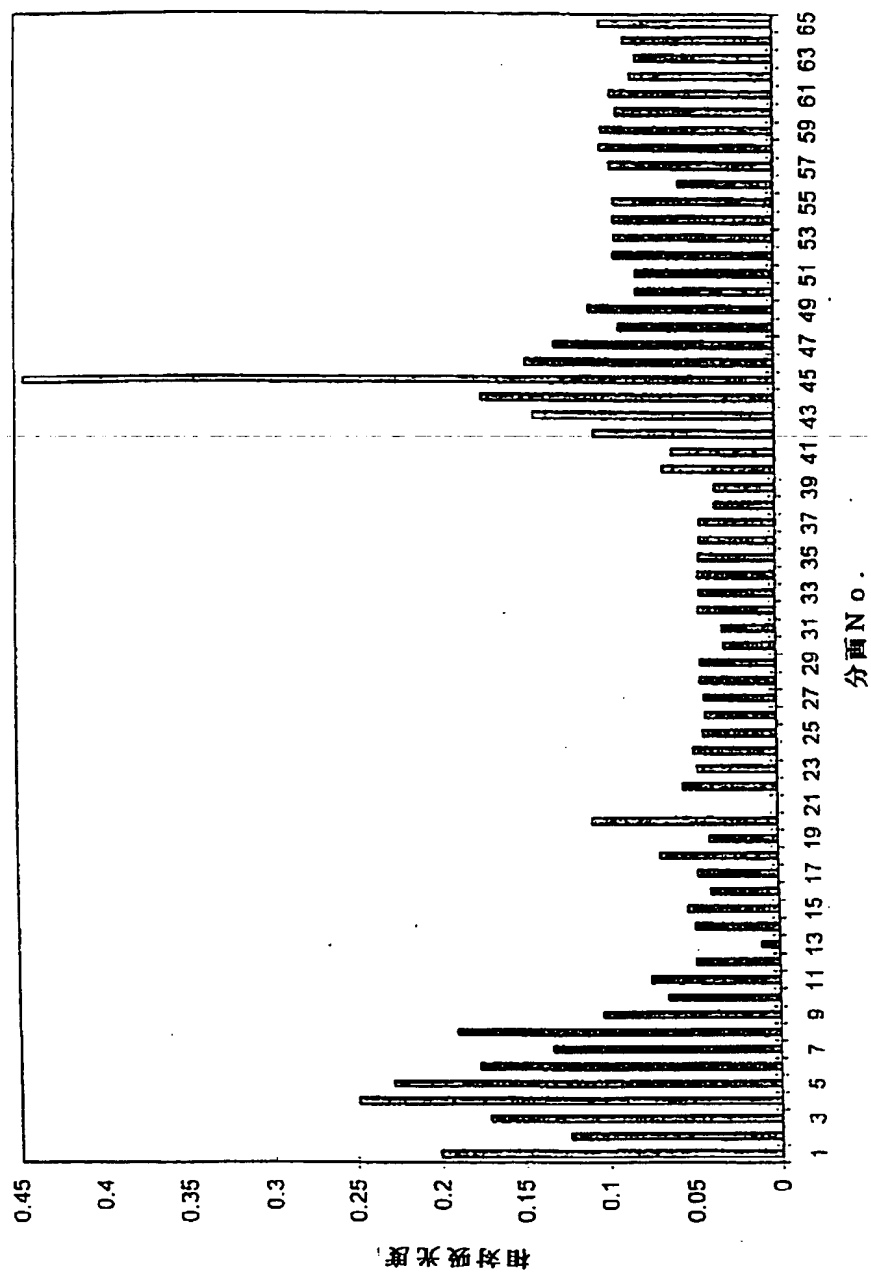


Fig. 3

第四アミンフイブリルカラム上でのウシ血清アルブミンの溶出プロフィール

【図4】

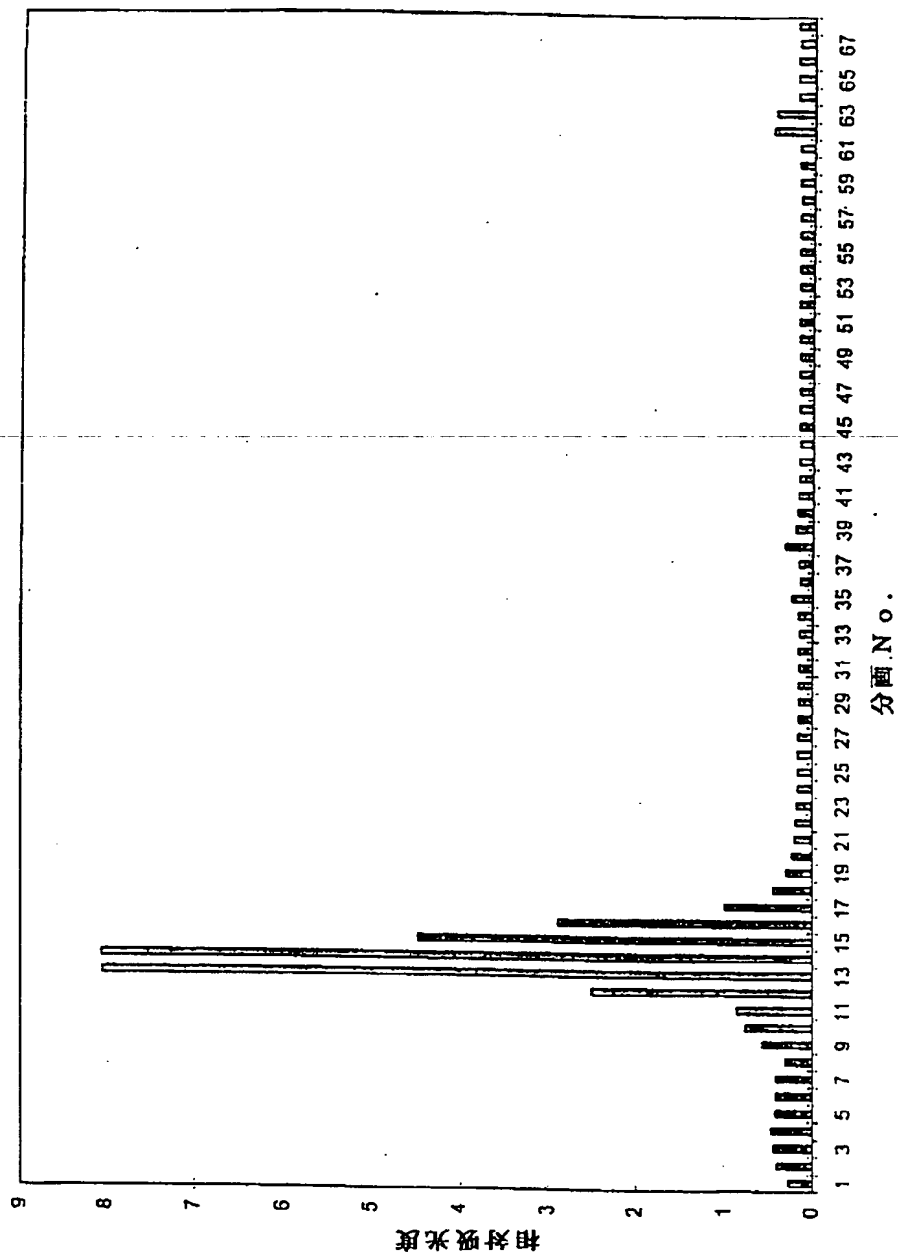


Fig. 4

【图 5】

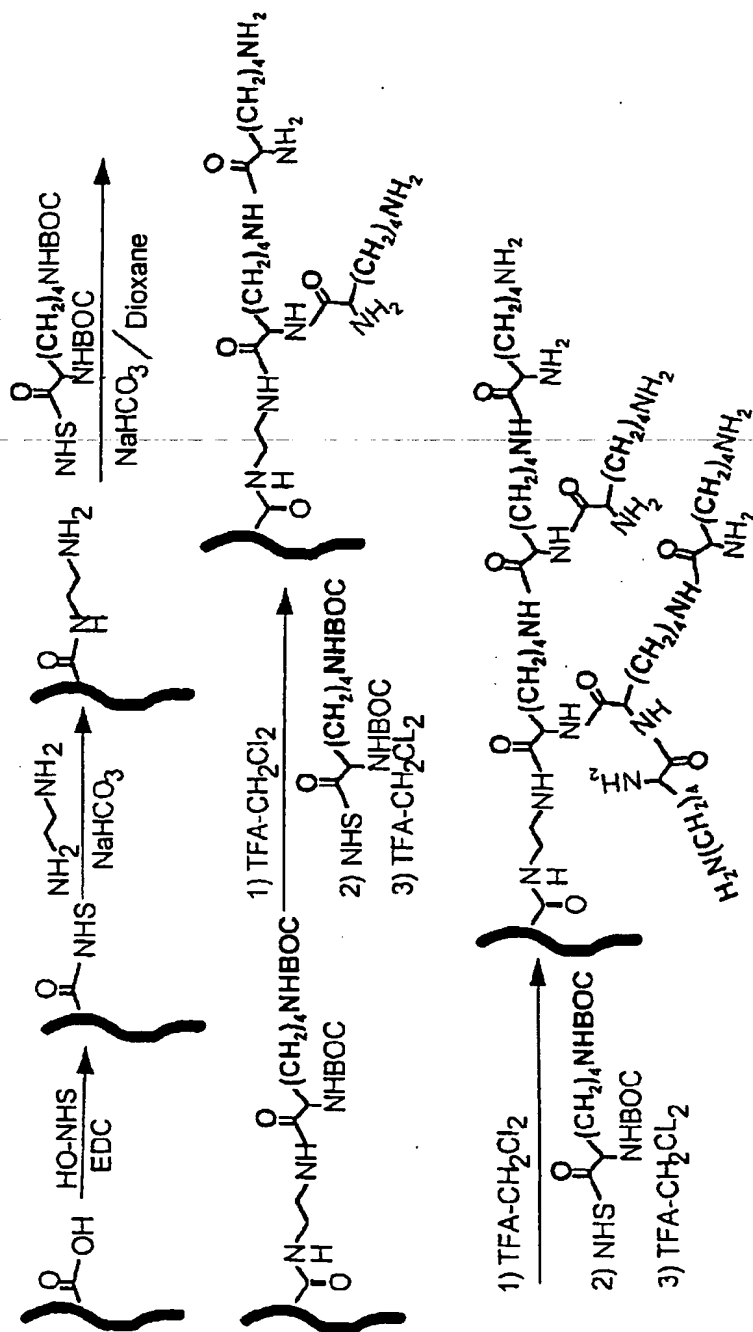


Fig. 5

フローセルにおけるFePc修飾CN電極

【図6】

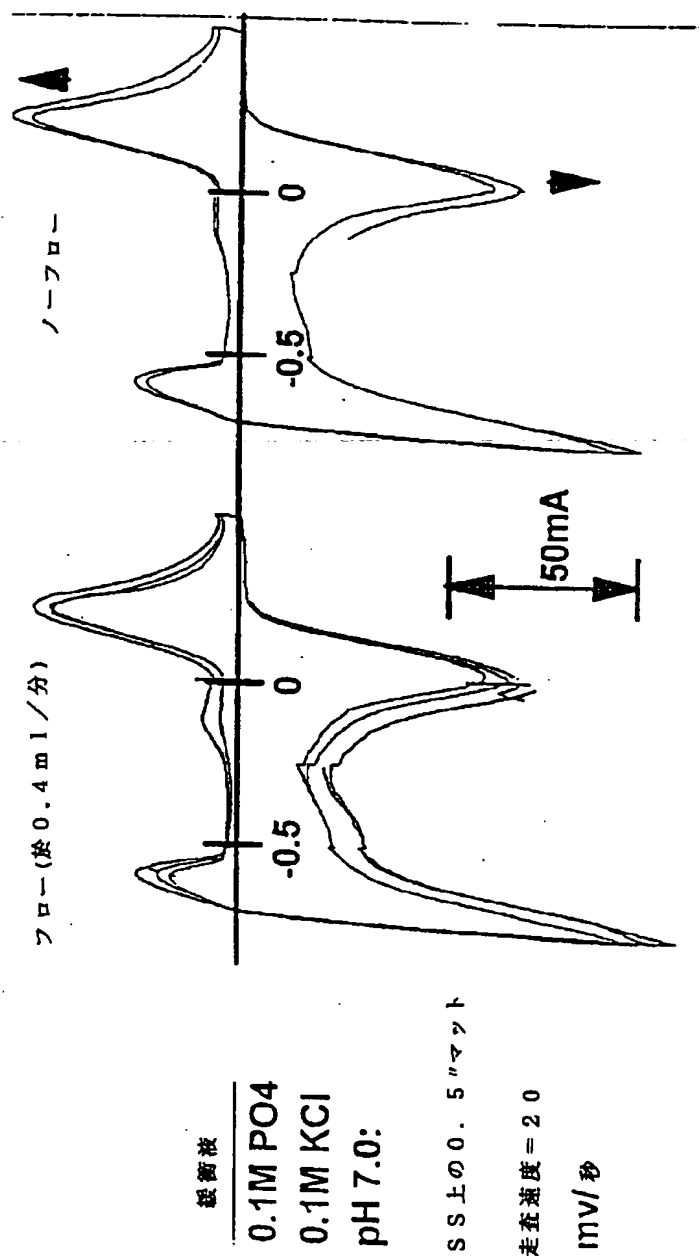


Fig. 6

【图 7】

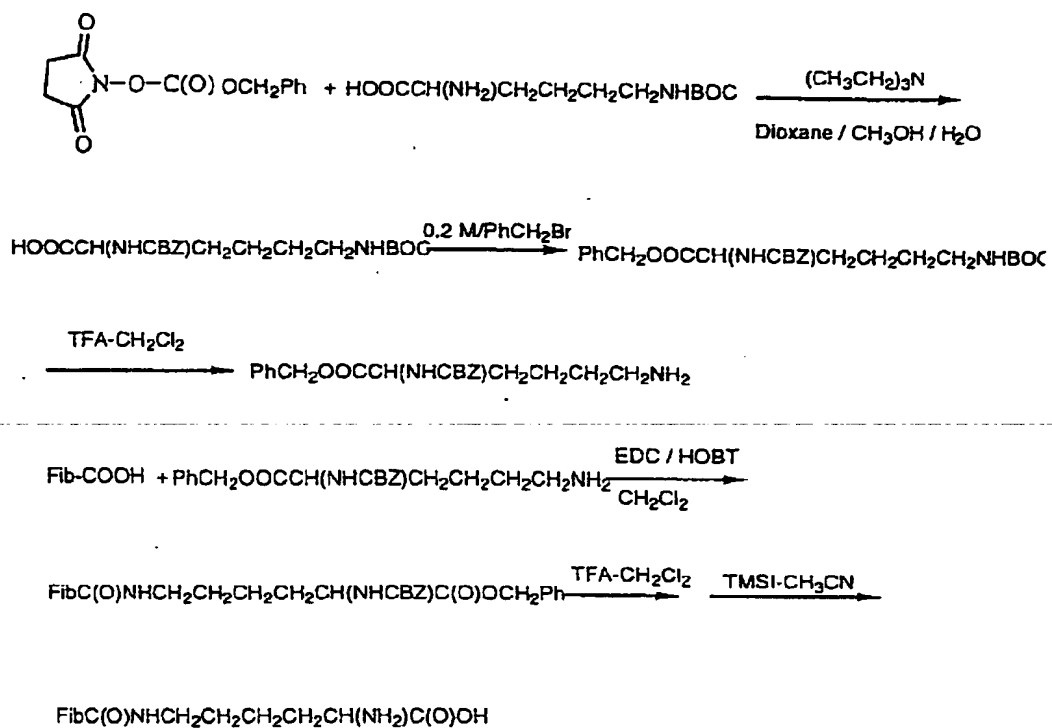


Fig. 7

フィブリル-リパーゼによって触媒されたエステル化

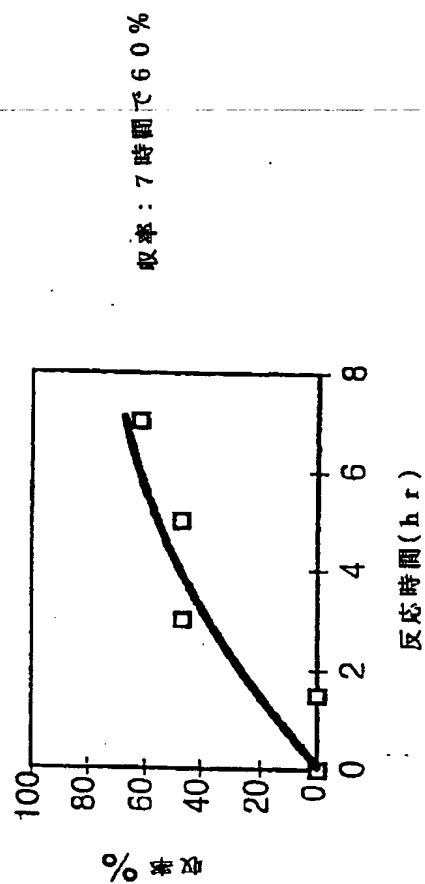
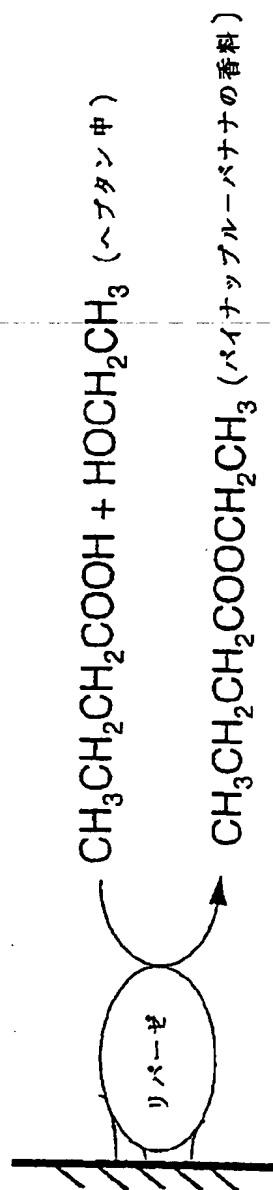


Fig. 8

【図9】

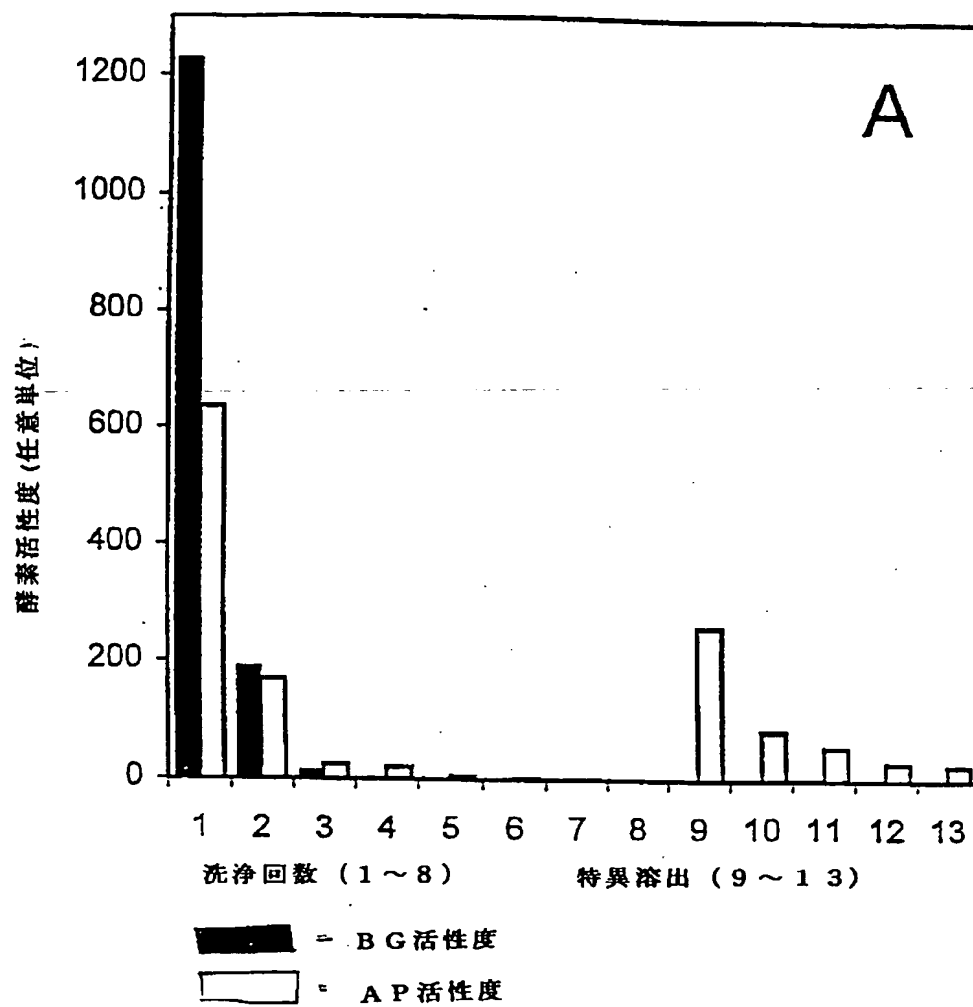


Fig. 9

【図10】

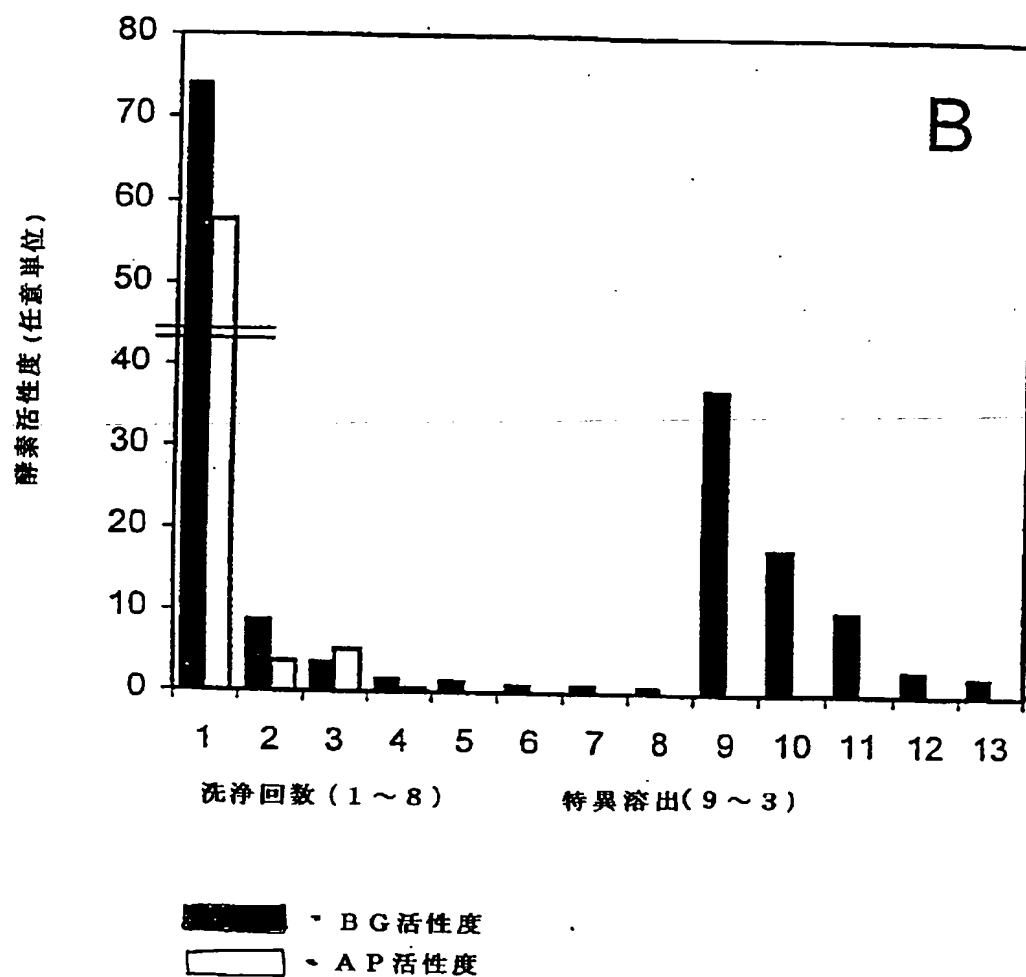


Fig. 10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US97/03553

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(6) : A61K 9/00; A01N 25/00; C09C 1/56; B32B 5/16
US CL : 424/405, 484, 485, 486; 435/174, 177, 180; 514/772, 772.1 788.1

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

U.S. : 530/402, 810, 815, 812; 815; 935/22, 52, 54; 423/447.2, 447.3, 460; 428/376, 367, 398, 403, 408

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
NONEElectronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
NONE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 4,662,230 A (TENNET) 05 May 1987, see entire document.	1-64
A	US 5,346,683 A (GREEN et al) 13 September 1994, see entire document.	1-64
A	US 5,424,054 A (BETHUNE et al) 13 June 1995, see entire document.	1-64
A, P	US 5,547,748 A (RUOFF) 20 August 1996, see entire document.	1-64
A	US 5,465,587 A (FITZPATRICK-MCELLIGOTT et al) 14 November 1995, see entire document.	1-64
A	US 5,472,749 A (DRAVID et al) 05 December 1995, see entire document.	1-64

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

**

later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

*X

document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

*Y

document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

*A

document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

26 JUNE 1997

Date of mailing of the international search report

18 JUL 1997

Name and mailing address of the ISA/US
Commissioner of Patents and Trademarks
Box PCT
Washington, D.C. 20231

Facsimile No. (703) 305-3230

Authorized officer

THURMAN K. PAGE

Telephone No. (703) 305-2351

International application No.
PCT/US97/03553

International application No.
PCT/US97/03553

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A • P	US 5,482,601 A (OHSHIMA et al) 09 January 1996, see entire document.	1-64

-132-

フロントページの続き

(51) Int. Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 C	51/353	C 0 7 C	51/353
	57/40		57/40
	57/72		57/72
	63/44		63/44
	209/00		209/00
	211/57		211/57
	233/65		233/65
	319/14		319/14
C 0 7 D	487/22	C 0 7 D	487/22
C 0 7 F	1/02	C 0 7 F	1/02
	5/00		5/00
	7/08		7/08
C 0 7 K	17/08	C 0 7 K	17/08
C 0 8 J	3/12	C 0 8 J	3/12
G 0 1 N	27/30	G 0 1 N	27/30
(81) 指定国	EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, L U, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, KE, LS, MW, S D, SZ, UG), AM, AT, AU, BA, BB, B G, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, HU, I L, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, L K, LR, LT, LU, LV, MD, MG, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TT, UA, U S, UZ, VN, YU		
(72) 発明者	モイ, デビッド アメリカ合衆国01890 マサチューセッツ 州ウインチェスター, エドワード ドライ ブ 21		
(72) 発明者	ルー, ミン アメリカ合衆国20706 メリーランド州ラ ンハム, ダールグリーン コート 6411		
(72) 発明者	マーチン, マーク アメリカ合衆国20852 メリーランド州エ ヌ. ベセスダ, オールド ファーム コー ト 6516		
(72) 発明者	ニウ, チュン, ミン アメリカ合衆国02144 マサチューセッツ 州サマビル, コンウエル アベニュー 104		
(72) 発明者	オガタ, ナオヤ 東京都千代田区紀尾井町7-1 上智大学 化学部内		

- (72)発明者 テネント, ハワード
アメリカ合衆国19348 ペンシルバニア州
ケネット スクウェア, チャンドラー ミ
ル ロード 301
- (72)発明者 ドン, リウエン
アメリカ合衆国20850 メリーランド州ロ
ックビル, ボトマック オークス ドライ
ブ 11411
- (72)発明者 スン, ジー
アメリカ合衆国20854 メリーランド州ボ
トマック, ヘイワース ドライブ 13504
- (72)発明者 ヘルムズ, ラーリイ
アメリカ合衆国20874 メリーランド州ジ
ャーマンタウン, コッテイジ ガーデン
ドライブ 18036, アパートメント 103
- (72)発明者 ジャメイソン, ファビアン
アメリカ合衆国20879 メリーランド州ガ
イザーズバーグ, ウォーカーズ チョイス
ロード 18810, ナンバー 4
- (72)発明者 リアン, パム
アメリカ合衆国91801 カリフォルニア州
アルハムブラ, マルガリータ アベニュー
123, アパートメント シー
- (72)発明者 シンプソン, デビッド
アメリカ合衆国20852 メリーランド州エ
ヌ. ベセスダ, サルキイ レーン 611

* NOTICES *

JPO and NCIPi are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

CLAIMS

[Claim(s)]

1. Formula $[C_n H_L \rightarrow R_m]$

carbon atom and C_n are surface carbon of a cylinder-like graphite nature nanotube among [type at the real target which has larger die length / diameter ratio than 5, and a diameter smaller than 0.5micro. n is an integer, L is a number smaller than $0.1n$, and m is a number smaller than $0.5n$. It is the same and each of R is SO_3H , $COOH$, NH_2 and OH , $R'CHOH$, CHO and CN , $COCl$, halide, $COSH$, SH , $COOR'$, SR' , and SiR'^3 ,
 $Si \leftarrow OR' \rightarrow \nu R'_{3-\nu}$, $Si \leftarrow O-SiR'_2 \rightarrow OR'$, R'' , Li ,

AlR'_2 , $Hg-X$, and TlZ_2 $Mg-X$ -- since -- it chooses -- having -- y -- three or less integer -- it is -- R' -- hydrogen, alkyl, aryl, cycloalkyl, an aralkyl, cyclo aryl, or Pori (alkyl ether) -- it is -- R'' -- fluoro alkyl, fluoro aryl, fluoro cycloalkyl, or a fluoro aralkyl -- it is -- X -- halide -- it is -- and --] whose Z is carboxylate or trifluoroacetate

2. Formula $[C_n H_L \rightarrow R_m]$

Among [type, carbon atom and C_n contain pyrolysis adhesion carbon substantially, twist it, and are surface carbon of cylinder-like graphite nature fibril substantially. It distance-stretch-*****, the projection of the graphite layer on said fibril -- a fibril diameter -- for two, even if few n is an integer, L is a number smaller than $0.1n$, and m is a number smaller than $0.5n$. It is the same and each of R is SO_3H , $COOH$, NH_2 and OH , $R'CHOH$, CHO and CN , $COCl$, halide, $COSH$, SH , $COOR'$, SR' , and SiR'^3 ,
 $Si \leftarrow OR' \rightarrow \nu R'_{3-\nu}$, $Si \leftarrow O-SiR'_2 \rightarrow OR'$, R'' , Li ,

AlR'_2 , $Hg-X$, TlZ_2 , and $Mg-X$ -- since -- it chooses -- having -- y -- three or less integer -- it is -- R' -- hydrogen, alkyl, aryl, cycloalkyl, an aralkyl, cyclo aryl, or Pori (alkyl ether) -- it is -- R'' -- fluoro alkyl, fluoro aryl, fluoro cycloalkyl, or a fluoro aralkyl -- it is -- X -- halide -- it is -- and --] whose Z is carboxylate or trifluoroacetate

3. Formula $[C_n H_L \rightarrow R_m]$

carbon atom and C_n are the surface atoms of fish bone fibril among [type, n is an integer, L is a number smaller than $0.1n$, m is a number smaller than $0.5n$, each of R is the same, and it is SO_3H , $COOH$, NH_2 and OH , $R'CHOH$, CHO and CN , $COCl$, halide, $COSH$, SH , $COOR'$, SR' , and SiR'^3 ,
 $Si \leftarrow OR' \rightarrow \nu R'_{3-\nu}$, $Si \leftarrow O-SiR'_2 \rightarrow OR'$, R'' , Li ,

AlR'_2 , $Hg-X$, TlZ_2 , and $Mg-X$ -- since -- it chooses -- having -- y -- three or less integer -- it is -- R' -- hydrogen, alkyl, aryl, cycloalkyl, an aralkyl, cyclo aryl, or Pori (alkyl ether) -- it is -- R'' -- fluoro alkyl, fluoro aryl, fluoro cycloalkyl, or a fluoro aralkyl -- it is -- X -- halide -- it is -- and --] whose Z is carboxylate or trifluoroacetate

4. Formula $[C_n H_L \rightarrow R_m]$

carbon atom and C_n are surface carbon of a cylinder-like graphite nature nanotube among [type at the real target which has larger die length / diameter ratio than 5, and a diameter smaller than 0.5micro. n is an integer, L is a number smaller than 0.1n, and m is a number smaller than 0.5n. It may be the same, or you may differ and each of R is SO₃H, COOH, NH₂ and OH, R'CHOH, CHO and CN, COCl, halide, COSH, SH, COOR', SR', and SiR'₃, $S i \leftarrow O R' \rightarrow, R'_{3-y}, S i \leftarrow O - S i R'_{2} \rightarrow O R', R'', L i,$

AlR'₂, Hg-X, TlZ₂, and Mg-X -- since -- it chooses -- having -- y is three or less integer. R' Hydrogen, alkyl, aryl, cycloalkyl, an aralkyl, It is chosen out of cyclo aryl or Pori (alkyl ether). R'' Fluoro alkyl, They are fluoro aryl, fluoro cycloalkyl, or a fluoro aralkyl. X is halide. Z is carboxylate or trifluoroacetate. And] on condition of COOH not existing, when each of R is an oxygen content radical

5. Formula $[C_n H_L \rightarrow R_m]$

Among [type, carbon atom and C_n contain pyrolysis adhesion carbon substantially, twist it, and are surface carbon of cylinder-like graphite nature fibril substantially. It distance-stretch-*****, the projection of the graphite layer on said fibril -- a fibril diameter -- for two, even if few n is an integer, L is a number smaller than 0.1n, and m is a number smaller than 0.5n. It may be the same, or you may differ and each of R is SO₃H, COOH, NH₂ and OH, R'CHOH, CHO and CN, COCl, halide, COSH, SH, COOR', SR', and SiR'₃, $S i \leftarrow O R' \rightarrow, R'_{3-y}, S i \leftarrow O - S i R'_{2} \rightarrow O R', R'', L i,$

AlR'₂, Hg-X, TlZ₂, and Mg-X -- since -- it chooses -- having -- y is three or less integer. R' Hydrogen, alkyl, aryl, cycloalkyl, an aralkyl, They are cyclo aryl or Pori (alkyl ether). R'' Fluoro alkyl, They are fluoro aryl, fluoro cycloalkyl, or a fluoro aralkyl. X is halide. Z is carboxylate or trifluoroacetate. And] on condition of COOH not existing, when each of R is an oxygen content radical

6. Formula $[C_n H_L \rightarrow R_m]$

carbon atom and C_n may be the surface atoms of fish bone fibril among [type, n may be an integer, L may be a number smaller than 0.1n, m may be a number smaller than 0.5n, and each of R may be the same, or you may differ, and it is SO₃H, COOH, NH₂ and OH, R'CHOH, CHO and CN, COCl, halide, COSH, SH, COOR', SR', and SiR'₃, $S i \leftarrow O R' \rightarrow, R'_{3-y}, S i \leftarrow O - S i R'_{2} \rightarrow O R', R'', L i,$

AlR'₂, Hg-X, TlZ₂, and Mg-X -- since -- it chooses -- having -- y is three or less integer. R' Hydrogen, alkyl, aryl, cycloalkyl, an aralkyl, They are cyclo aryl or Pori (alkyl ether). R'' Fluoro alkyl, They are fluoro aryl, fluoro cycloalkyl, or a fluoro aralkyl. X is halide. Z is carboxylate or trifluoroacetate. And] on condition of COOH not existing, when each of R is an oxygen content radical

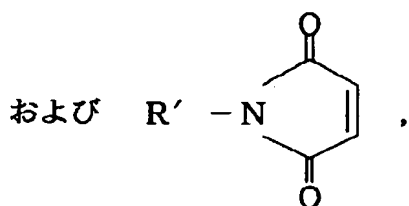
7. Formula $[C_n H_L \rightarrow A_m]$

carbon atom and C_n are surface carbon of a cylinder-like graphite nature nanotube among [type at the real target which has larger die length / diameter ratio than 5, and a diameter smaller than 0.1micro, n is an integer, L is a number smaller than 0.1n, m is a number smaller than 0.5n, and it is each of A.

$\begin{matrix} O & O & O & O & O \\ || & || & || & || & || \end{matrix}$
OY, NHY, C-OY, C-NR' Y, C-SY, C-Y, -CR' ₂-OY, N=Y, -NHCY または

C=Y -- since -- it chooses -- having -- Y -- protein, a peptide, amino acid, an enzyme, an antibody, a nucleotide, oligo NUKUREOCHITO, an antigen or an enzyme substrate, enzyme inhibitor, or the suitable functional group of the transition state analog of an enzyme substrate -- it is -- or R'-OH and R' -N (R')₂, R'SH, R'CHO, R'CN,

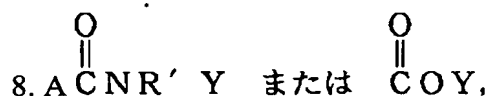
$R' N^+ (R')_3 X^-$, $R' SiR'_3$, $R' Si \leftarrow OR' \rightarrow, R'_{3-y}$,
 $R' Si \leftarrow O-SiR'_2 \rightarrow OR'$, $R'-R''$, $R'-N-CO$,
 and $R'X$, $(C_2 H_4 O)_w H$, $\leftarrow C_3 H_6 O \rightarrow_w H$, $\leftarrow C_2 H_4 O \rightarrow_w -R'$,



$(C_3 H_6 O)_w - R', R'$,

since -- it chooses -- having -- y -- three or less integer -- it is -- R' -- hydrogen, alkyl, aryl, cycloalkyl, an
 aralkyl, or cyclo aryl -- it is -- R'' -- fluoro alkyl, fluoro aryl, fluoro cycloalkyl, or a fluoro aralkyl -- it is -- X --
 halide -- it is -- Z -- a gal BOKISHI rate or trifluoroacetate -- it is -- and --] whose w is a larger and integer
 smaller than 200 than 1

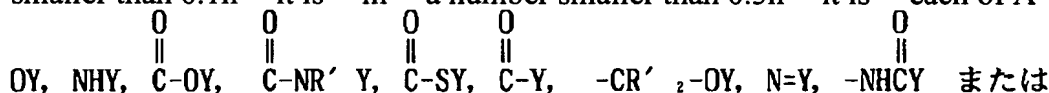
*****.



coming out -- it is -- R' -- H -- it is -- and -- Compost of claim 7 whose Y is the amino acid chosen from the
 group which consists of a lysine, a serine, a threonine, a thyrosin, an aspartic acid, and glutamic acid.

9. Formula $[C_n H_m] A_m$

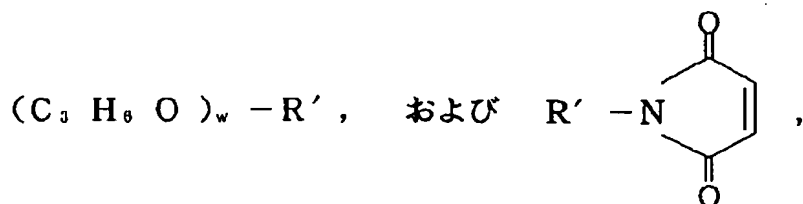
carbon atom and C_n do not contain pyrolysis adhesion carbon substantially among [type -- substantial -- the
 surface carbon of cylinder-like graphite nature fibril -- it is -- the projection of the graphite layer on said fibril --
 a fibril diameter -- even if few -- distance stretch ***** for two, and n -- an integer -- it is -- L -- a number
 smaller than 0.1n -- it is -- m -- a number smaller than 0.5n -- it is -- each of A



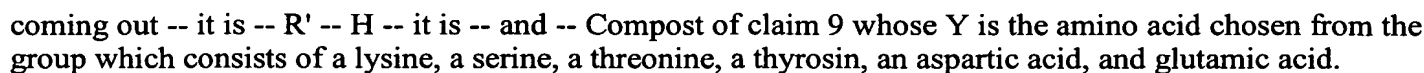
$C=Y$ -- since -- it chooses -- having -- Y -- protein, a peptide, amino acid, an enzyme, an antibody, a nucleotide,
 an oligonucleotide, an antigen or an enzyme substrate, enzyme inhibitor, or the suitable functional group of the
 transition state analog of an enzyme substrate -- it is -- or $R'-OH$ and $R'-N(R')_2$, $R'SH$, $R'CHO$, $R'CN$, and $R'X$,
 $R' N^+ (R')_3 X^-$, $R' SiR'_3$, $R' Si \leftarrow OR' \rightarrow, R'_{3-y}$,

$R' Si \leftarrow O-SiR'_2 \rightarrow OR'$, $R'-R''$, $R'-N-CO$,

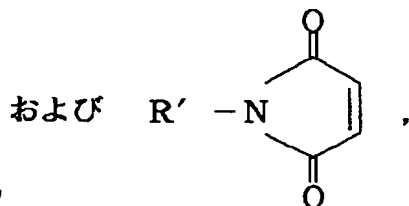
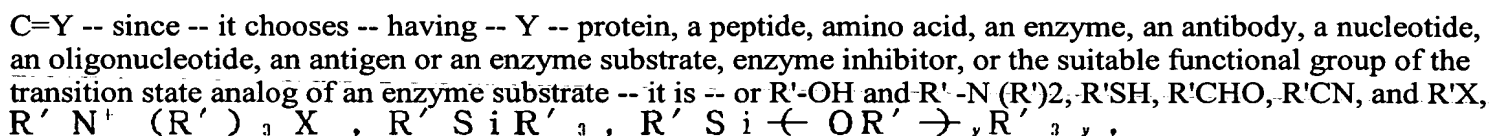
$(C_2 H_4 O)_w H$, $\leftarrow C_3 H_6 O \rightarrow_w H$, $\leftarrow C_2 H_4 O \rightarrow_w -R'$,



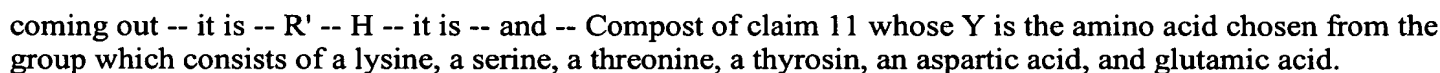
since -- it chooses -- having -- y -- three or less integer -- it is -- R' -- hydrogen, alkyl, aryl, cycloalkyl, an
 aralkyl, or cyclo aryl -- it is -- R'' -- fluoro alkyl, fluoro aryl, fluoro cycloalkyl, or a fluoro aralkyl -- it is -- X --
 halide -- it is -- Z -- carboxylate or trifluoroacetate -- it is -- and --] whose w is a larger and integer smaller than



It is the surface atom of carbon atom, Cn, and ** fish bone fibril among [type, n is an integer, L is a number smaller than 0.1n, m is a number smaller than 0.5n, and it is each of A.



since -- it chooses -- having -- y -- three or less integer -- it is -- R' -- hydrogen, alkyl, aryl, cycloalkyl, an aralkyl, or cyclo aryl -- it is -- R'' -- fluoro alkyl, fluoro aryl, fluoro cycloalkyl, or a fluoro aralkyl -- it is -- X -- halide -- it is -- Z -- carboxylate or trifluoroacetate -- it is -- and --] whose w is a larger and integer smaller than 200 than 1



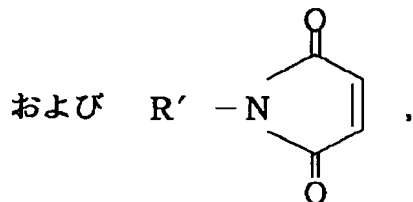
carbon atom and Cn are surface carbon of a cylinder-like graphite nature nanotube among [type at the real target which has larger die length / diameter ratio than 5, and a diameter smaller than 0.5micro, n is an integer, L is a number smaller than 0.1n, m is a number smaller than 0.5n, each of R' is alkyl, aryl, cycloalkyl, an aralkyl, cyclo aryl, or Pori (alkyl ether), and it is A.



an oligonucleotide, an antigen or an enzyme substrate, enzyme inhibitor, or the suitable functional group of the transition state analog of an enzyme substrate -- it is -- or R'-OH and R'-N(R')₂, R'SH, R'CHO, R'CN, and R'X, R' N⁺ (R')₃ X⁻, R' Si R' ₃, R' Si ← OR' →, R' ₃, ,

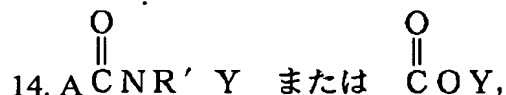
R' Si ← O-Si R' ₂ → OR' , R' -R'' , R' -N-CO,

(C₂ H₄ O)_wH, ← C₃ H₆ O)_wH, ← C₂ H₄ O)_w-R' ,



(C₃H₆O)_w-R',R',





since -- it chooses -- having -- y -- three or less integer -- it is -- R'' -- fluoro alkyl, fluoro aryl, fluoro cycloalkyl, or a fluoro aralkyl -- it is -- X -- halide -- it is -- Z -- carboxylate or trifluoroacetate -- it is -- and --] whose w is a larger and integer smaller than 200 than 1



coming out -- it is -- R' -- H -- it is -- and -- Compost of claim 13 whose Y is the amino acid chosen from the group which consists of a lysine, a serine, a threonine, a thyrosin, an aspartic acid, and glutamic acid.

15. Formula [C_n H_L]_m [R' - A]_m

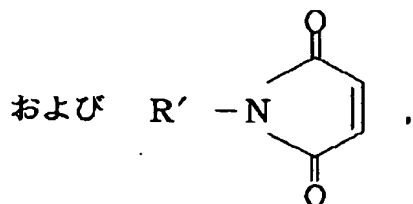
Among [type, carbon atom and C_n contain pyrolysis adhesion carbon substantially, twist it, and are surface carbon of cylinder-like graphite nature fibril substantially. It distance-stretch-*****. the projection of the graphite layer on said fibril -- a fibril diameter -- for two, even if few n is an integer, L is a number smaller than 0.1n, and m is a number smaller than 0.5n. Each of R' is alkyl, aryl, cycloalkyl, an aralkyl, cyclo aryl, or Pori

(alkyl ether). A OY, NHY,  ,  ,  ,  , -CR' ₂ -OY, N=Y, -NHCY または

C=Y -- since -- it chooses -- having -- Y -- protein, a peptide, an enzyme, amino acid, an antibody, a nucleotide, an oligonucleotide, an antigen or an enzyme substrate, enzyme inhibitor, or the suitable functional group of the transition state analog of an enzyme substrate -- it is -- or R'-OH, R-NR'₂, R'SH, R'CHO, R'CN, and R'X, R' N⁺ (R')₃ X⁻, R' Si R' ₃, R' Si ← OR' →, R' ₃, ,

R' Si ← O-Si R' ₂ → OR' , R' -R'' , R' -N-CO,

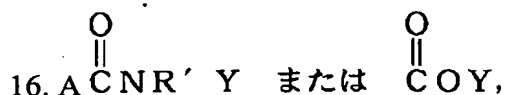
(C₂ H₄ O)_wH, ← C₃ H₆ O)_wH, ← C₂ H₄ O)_w-R' ,



(C₃H₆O)_w-R',R',

since -- it chooses -- having -- y -- three or less integer -- it is -- R'' -- fluoro alkyl, fluoro aryl, fluoro cycloalkyl, or a fluoro aralkyl -- it is -- X -- halide -- it is -- Z -- carboxylate or trifluoroacetate -- it is -- and --] whose w is a larger and integer smaller than 200 than 1

*****.



coming out -- it is -- R' -- H -- it is -- and -- Compost of claim 15 whose Y is the amino acid chosen from the group which consists of a lysine, a serine, a threonine, a thyrosin, an aspartic acid, and glutamic acid.

17. Formula $[\text{C}_n \text{H}_L \text{---} [\text{R}' - \text{A}]_m$

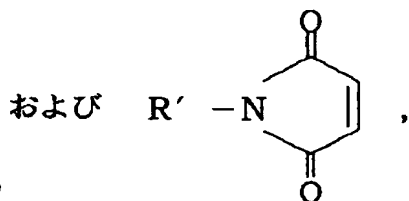
carbon atom and Cn are the surface atoms of fish bone fibril among [type, n is an integer, L is a number smaller than 0.1n, m is a number smaller than 0.5n, each of R' is alkyl, aryl, cycloalkyl, an aralkyl, cyclo aryl, or Pori

(alkyl ether), and it is A. OY, NHY, $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} \end{array} \text{OY}$, $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} \end{array} \text{NR}' \text{Y}$, $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} \end{array} \text{SY}$, $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} \end{array} \text{Y}$, $-\text{CR}'_2\text{OY}$, N=Y , $-\text{NHCY}$ または

C=Y -- since -- it chooses -- having -- Y -- protein, a peptide, amino acid, an enzyme, an antibody, a nucleotide, an oligonucleotide, an antigen or an enzyme substrate, enzyme inhibitor, or the suitable functional group of the transition state analog of an enzyme substrate -- it is -- or R'-OH and R'-N(R')₂, R'SH, R'CHO, R'CN, and R'X, $\text{R}' \text{N}^+ (\text{R}')_3 \text{X}^-$, $\text{R}' \text{SiR}'_3$, $\text{R}' \text{Si} \leftarrow \text{OR}' \rightarrow \text{R}'$, $\text{R}' \text{Si} \leftarrow \text{O-SiR}'_2 \rightarrow \text{OR}'$, $\text{R}' - \text{R}''$, $\text{R}' - \text{N} - \text{CO}$, $(\text{C}_2 \text{H}_4 \text{O})_w \text{H}$, $\leftarrow \text{C}_3 \text{H}_6 \text{O} \rightarrow_w \text{H}$, $\leftarrow \text{C}_2 \text{H}_4 \text{O} \rightarrow_w \text{R}'$,

$\text{R}' \text{Si} \leftarrow \text{O-SiR}'_2 \rightarrow \text{OR}'$, $\text{R}' - \text{R}''$, $\text{R}' - \text{N} - \text{CO}$,

$(\text{C}_2 \text{H}_4 \text{O})_w \text{H}$, $\leftarrow \text{C}_3 \text{H}_6 \text{O} \rightarrow_w \text{H}$, $\leftarrow \text{C}_2 \text{H}_4 \text{O} \rightarrow_w \text{R}'$,



$(\text{C}_3 \text{H}_6 \text{O})_w \text{R}'$, R'

since -- it chooses -- having -- y -- three or less integer -- it is -- R'' -- fluoro alkyl, fluoro aryl, fluoro cycloalkyl, or a fluoro aralkyl -- it is -- X -- halide -- it is -- Z -- carboxylate or trifluoroacetate -- it is -- and --] whose w is a larger and integer smaller than 200 than 1

*****.

18. Formula $[\text{C}_n \text{H}_L \text{---} [\text{X}' - \text{A}_a]_m$

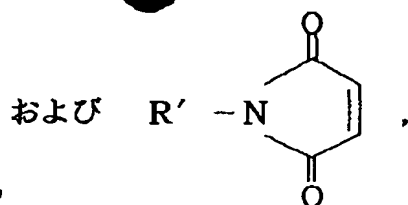
carbon atom and Cn are surface carbon of a cylinder-like graphite nature nanotube among [type at the real target which has larger die length / diameter ratio than 5, and a diameter smaller than 0.5micro, n is an integer, L is a number smaller than 0.1n, m is a number smaller than 0.5n, a is an integer smaller than 10, and it is each of A.

OY, NHY, $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} \end{array} \text{OY}$, $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} \end{array} \text{NR}' \text{Y}$, $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} \end{array} \text{SY}$, $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} \end{array} \text{Y}$, $-\text{CR}'_2\text{OY}$, N=Y , $-\text{NHCY}$ または

O=Y -- since -- it chooses -- having -- Y -- protein, a peptide, amino acid, an enzyme, an antibody, a nucleotide, an oligonucleotide, an antigen or an enzyme substrate, enzyme inhibitor, or the suitable functional group of the transition state analog of an enzyme substrate -- it is -- or R'-OH and R'-N(R')₂, R'SH, R'CHO, R'CN, and R'X, $\text{R}' \text{N}^+ (\text{R}')_3 \text{X}^-$, $\text{R}' \text{SiR}'_3$, $\text{R}' \text{Si} \leftarrow \text{OR}' \rightarrow \text{R}'$, $\text{R}' \text{Si} \leftarrow \text{O-SiR}'_2 \rightarrow \text{OR}'$, $\text{R}' - \text{R}''$, $\text{R}' - \text{N} - \text{CO}$, $(\text{C}_2 \text{H}_4 \text{O})_w \text{H}$, $\leftarrow \text{C}_3 \text{H}_6 \text{O} \rightarrow_w \text{H}$, $\leftarrow \text{C}_2 \text{H}_4 \text{O} \rightarrow_w \text{R}'$,

$\text{R}' \text{Si} \leftarrow \text{O-SiR}'_2 \rightarrow \text{OR}'$, $\text{R}' - \text{R}''$, $\text{R}' - \text{N} - \text{CO}$,

$(\text{C}_2 \text{H}_4 \text{O})_w \text{H}$, $\leftarrow \text{C}_3 \text{H}_6 \text{O} \rightarrow_w \text{H}$, $\leftarrow \text{C}_2 \text{H}_4 \text{O} \rightarrow_w \text{R}'$,



(C₃H₆O)_w-R',R'

since -- it chooses -- having -- y -- three or less integer -- it is -- R' -- alkyl, aryl, cycloalkyl, an aralkyl, or cyclo aryl -- it is -- R'' -- fluoro alkyl, fluoro aryl, fluoro cycloalkyl, or a fluoro aralkyl -- it is -- X -- halide -- it is -- X' -- polykaryotic aromatic series, the poly hetero nucleus aromatic series, or a meta-ROPORI hetero nucleus aromatic series component -- it is -- Z -- carboxylate or trifluoroacetate -- it is -- and --] whose w is a larger and integer smaller than 200 than 1

19. Formula $[C_n H_L \text{---} [X' - A_a]_m$

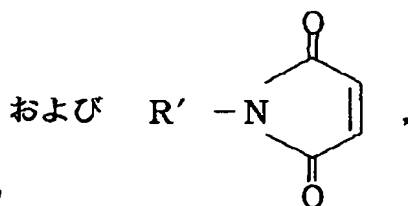
carbon atom and C_n do not contain pyrolysis adhesion carbon substantially among [type -- substantial -- the surface carbon of cylinder-like graphite nature fibril -- it is -- the projection of the graphite layer on said fibril -- a fibril diameter -- even if few -- distance stretch ***** for two, and n -- an integer -- it is -- L -- a number smaller than 0.1n -- it is -- m -- a number smaller than 0.5n -- it is -- a -- an integer smaller than 10 -- it is --

each of A OY, NHY, $\overset{O}{\parallel}C-OY$, $\overset{O}{\parallel}C-NR'Y$, $\overset{O}{\parallel}C-SY$, $\overset{O}{\parallel}C-Y$, $-CR'_2-OY$, $N=Y$, $-NHCY$ または

C=Y -- since -- it chooses -- having -- Y -- protein, a peptide, amino acid, an enzyme, an antibody, a nucleotide, an oligonucleotide, an antigen or an enzyme substrate, enzyme inhibitor, or the suitable functional group of the transition state analog of an enzyme substrate -- it is -- or R'-OH and R'-N(R')₂, R'SH, R'CHO, R'CN, and R'X, $R'N^+(R')_3X$, $R'SiR'_3$, $R'Si \leftarrow OR' \rightarrow R'_3$,

$R'Si \leftarrow O-SiR'_2 \rightarrow OR'$, $R'-R''$, $R'-N-CO$,

$(C_2H_4O)_wH$, $\leftarrow C_3H_6O \rightarrow_wH$, $\leftarrow C_2H_4O \rightarrow_wR'$,



(C₃H₆O)_w-R',R'

since -- it chooses -- having -- y -- three or less integer -- it is -- R' -- alkyl, aryl, cycloalkyl, an aralkyl, or cyclo aryl -- it is -- R'' -- fluoro alkyl, fluoro aryl, fluoro cycloalkyl, or a fluoro aralkyl -- it is -- X -- halide -- it is -- X' -- polykaryotic aromatic series, the poly hetero nucleus aromatic series, or a meta-ROPORI hetero nucleus aromatic series component -- it is -- Z -- carboxylate or trifluoroacetate -- it is -- and --] whose w is a larger and integer smaller than 200 than 1

20. Formula $[C_n H_L \text{---} [X' - A_a]_m$

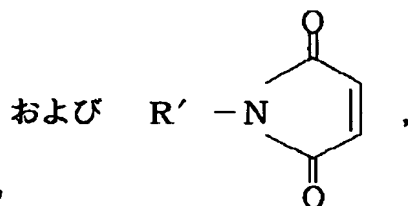
carbon atom and C_n are the surface atoms of fish bone fibril among [type, n is an integer, L is a number smaller than 0.1n, m is a number smaller than 0.5n, a is an integer smaller than 10, and it is each of A.

OY, NHY, $\overset{O}{\parallel}C-OY$, $\overset{O}{\parallel}C-NR'Y$, $\overset{O}{\parallel}C-SY$, $\overset{O}{\parallel}C-Y$, $-CR'_2-OY$, $N=Y$, $-NHCY$ または

C=Y -- since -- it chooses -- having -- Y -- protein, a peptide, amino acid, an enzyme, an antibody, a nucleotide, an oligonucleotide, an antigen or an enzyme substrate, enzyme inhibitor, or the suitable functional group of the transition state analog of an enzyme substrate -- it is -- or R'-OH and R'-N (R')₂, R'SH, R'CHO, R'CN, and R'X, R' N' (R')₃ X⁻, R' Si R'₃, R' Si \leftarrow OR' \rightarrow , R'₃, ,

R' Si \leftarrow O-Si R'₂ \rightarrow OR', R'-R'', R'-N-CO,

(C₂H₄O)_wH, \leftarrow C₃H₆O_wH, \leftarrow C₂H₄O)_w-R',



(C₃H₆O)_w-R',R'

since -- it chooses -- having -- y -- three or less integer -- it is -- R' -- alkyl, aryl, cycloalkyl, an aralkyl, or cyclo aryl -- it is -- R'' -- fluoro alkyl, fluoro aryl, fluoro cycloalkyl, or a fluoro aralkyl -- it is -- X -- halide -- it is -- X' -- polykaryotic aromatic series, the poly hetero nucleus aromatic series, or a meta-ROPORI hetero nucleus aromatic series component -- it is -- Z -- carboxylate or trifluoroacetate -- it is -- and --] whose w is a larger and integer smaller than 200 than 1

21. Formula -- < -- IMG Solvent Refined Coal="Getimg.IpdI?

N0000=15&N0001=Web342&N0002=004&N0003=JPA414503204_000055.Gif&N0004=20050811033348024 -- WIDTH= -- "248"HEIGHT="16"ALT=" ID=000055" -- >

[carbon atom and C_n are surface carbon of a cylinder-like graphite nature nanotube substantially among a formula, n is an integer, L is a number smaller than 0.1n, m is a number smaller than 0.5n, R' is hydrogen, alkyl, aryl, cycloalkyl, an aralkyl, cyclo aryl, or Pori (alkyl ether), and R'' is fluoro alkyl, fluoro aryl, fluoro cycloalkyl, or a fluoro aralkyl.]

It is the approach of generating *****. Compound which has surface carbon and formula R'CH₂OH under existence of a radical initiator,

式 $[\text{C}_n \text{H}_L \text{---} \text{CH}(\text{R}') \text{OH}]_m$ を有する官能化されたナノチューブを生

***** -- said approach of including the process made to react under sufficient conditions for a thing.

22. The approach of claim 21 that said radical initiator is ***** NZOIRU.

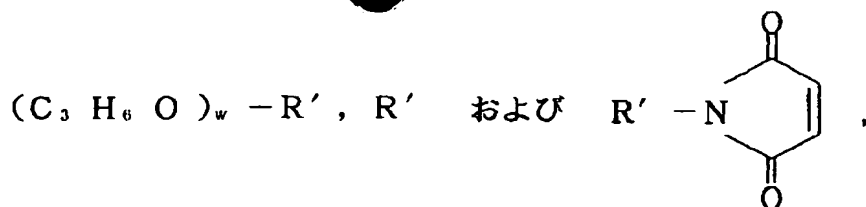
23. Formula $[\text{C}_n \text{H}_L \text{---} \text{A}]_m$

carbon atom and C_n are surface carbon of a cylinder-like graphite nature nanotube substantially among [type, n is an integer, L is a number smaller than 0.1n, m is a number smaller than 0.5n, and it is each of A.

$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{OY}, \text{NHY}, \text{C-OY}, \text{C-NR}'\text{Y}, \text{C-SY}, \text{C-Y}, \text{-CR}'_2\text{-OY}, \text{N=Y}, \text{-NHCY} \end{array}$ または

C=Y -- since -- it chooses -- having -- Y -- protein, a peptide, amino acid, an enzyme, an antibody, an oligonucleotide, a nucleotide, an antigen or an enzyme substrate, enzyme inhibitor, or the suitable functional group of the transition state analog of an enzyme substrate -- it is -- or R'- OH and R -- '-N (R')₂, R'SH, R'CHO, R'CN, R'X, R'SiR'₃ -N+(R')₃X- and R'-R'', R'-N-CO,

(C₂H₄O)_wH, \leftarrow C₃H₆O_wH, \leftarrow C₂H₄O)_w-R',



since -- it chooses -- having -- R' -- hydrogen, alkyl, aryl, cycloalkyl, an aralkyl, or cyclo aryl -- it is -- R'' -- fluoro alkyl, fluoro aryl, fluoro cycloalkyl, or a fluoro aralkyl -- it is -- X -- halide -- it is -- Z -- carboxylate or trifluoroacetate -- it is -- and --] whose w is a larger and integer smaller than 200 than 1

It is the approach of generating *****,

(a) 表面炭素と少なくとも一つの適切な試薬とを、式 $[C_n H_L \div R_m]$ (式

Each of R is the same inside. SO_3H , $COOH$, NH_2 and OH , $CH(R') OH$, CHO , CN $COCl$, halide, $COSH$, SH ,
 $S i R'_3$, $S i \leftarrow OR' \rightarrow R'_3$,

$COOR'$, SR' , $S i \leftarrow O - S i R'_2 \rightarrow OR'$, R'' , Li , $Al R'_2$, $Hg - X$,

TiZ_2 and $Mg - X$ from -- permutation nano CHU which is chosen and has] whose y is three or less integer it reacts under sufficient conditions to generate BU -- making --; -- and

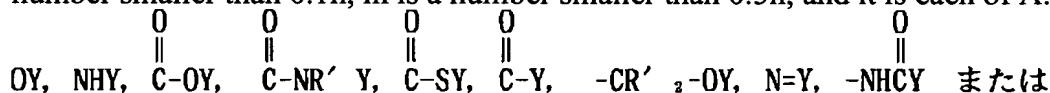
(b) 置換ナノチューブ $[C_n H_L \div R_m]$ と少なくとも一つの適切な試薬とを、

式 $[C_n H_L \div A_m]$ を有する官能化されたナノチューブを生成するのに

Said approach of including many processes made to react under sufficient conditions.

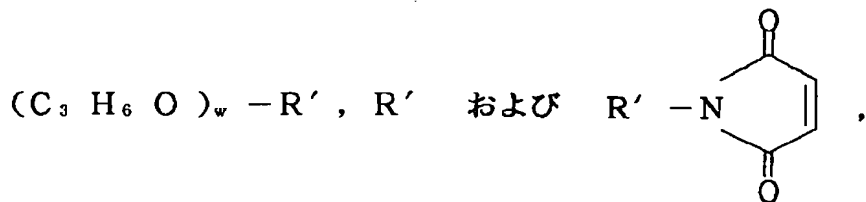
24. Formula $[C_n H_L \div A_m]$

carbon atom and C_n are surface carbon of a cylinder-like graphite nature nanotube among [type at the real target which has larger die length / diameter ratio than 5, and a diameter smaller than 0.1micro, n is an integer, L is a number smaller than 0.1n, m is a number smaller than 0.5n, and it is each of A .



$C=Y$ -- since -- it chooses -- having -- Y -- protein, a peptide, amino acid, an enzyme, an antibody, an oligonucleotide, a nucleotide, an antigen or an enzyme substrate, enzyme inhibitor, or the suitable functional group of the transition state analog of an enzyme substrate -- it is -- or $R' - OH$ and $R - 'N (R')_2$, $R'SH$, $R'CHO$, $R'CN$, $R'X$, $R'SiR'_3$, $R' - N+(R')_3X^-$ and $R' - R''$, $R' - N - CO$

$(C_2 H_4 O)_w H$, $\leftarrow C_3 H_6 O \rightarrow_w H$, $\leftarrow C_2 H_4 O \rightarrow_w R'$,



since -- it chooses -- having -- R' -- hydrogen, alkyl, aryl, cycloalkyl, an aralkyl, or cyclo aryl -- it is -- R'' -- fluoro alkyl, fluoro aryl, fluoro cycloalkyl, or a fluoro aralkyl -- it is -- X -- halide -- it is -- Z -- carboxylate or trifluoroacetate -- it is -- and --] whose w is a larger and integer smaller than 200 than 1

It is the approach of generating *****,

(a) 表面炭素と少なくとも一つの適切な試薬とを、式 $[C_n H_L \div R_m]$ (式

Inside and each of R SO₃H, COOH, NH₂ and OH, CH(R') OH, CHO, CN COCl, halide, COSH, SH, COOR',
 $\text{Si R}'_3$, $\text{Si} \leftarrow \text{OR}' \rightarrow \text{R}'_{3-y}$,

SR', $\text{Si} \leftarrow \text{O-Si R}'_2 \rightarrow \text{OR}'$, R'', Li, Al R'₂, Hg-X,

TLZ2 and Mg-X from -- permutation nano CHU which is chosen and has] whose y is three or less integer it reacts under sufficient conditions to generate BU -- making --; -- and

(b) 置換ナノチューブ [C_n H_L] R_m と少なくとも一つの適切な試薬とを、

式 [C_n H_L] A_m を有する官能化されたナノチューブを生成するのに

Said approach of including many processes made to react under sufficient conditions.

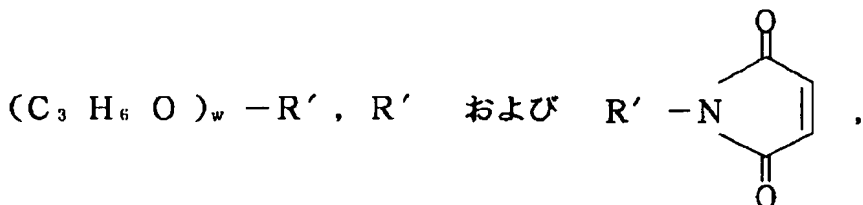
25. Formula [C_n H_L] A_m

carbon atom and C_n do not contain pyrolysis adhesion carbon substantially among [type -- substantial -- the surface carbon of a cylinder-like graphite nature nanotube -- it is -- n -- an integer -- it is -- L -- a number smaller than 0.1n -- it is -- m -- a number smaller than 0.5n -- it is -- each of A

OY, NHY, $\overset{\text{O}}{\parallel} \text{C-OY}$, $\overset{\text{O}}{\parallel} \text{C-NR}' \text{Y}$, $\overset{\text{O}}{\parallel} \text{C-SY}$, $\overset{\text{O}}{\parallel} \text{C-Y}$, -CR'₂-OY, N=Y, $\overset{\text{O}}{\parallel} \text{NHCY}$ または

C=Y -- since -- it chooses -- having -- Y -- protein, a peptide, amino acid, an enzyme, an antibody, an oligonucleotide, a nucleotide, an antigen or an enzyme substrate, enzyme inhibitor, or the suitable functional group of the transition state analog of an enzyme substrate -- it is -- or R'-OH and R -- '-N (R')₂, R'SH, R'CHO, R'CN, R'X, R'SiR'₃, R'-N+(R')₃X- and R'-R'', R'-N-CO

(C₂ H₄ O)_w H, $\leftarrow \text{C}_3 \text{H}_6 \text{O} \rightarrow \text{H}$, $\leftarrow \text{C}_2 \text{H}_4 \text{O} \rightarrow \text{R}'$,



since -- it chooses -- having -- R' -- hydrogen, alkyl, aryl, cycloalkyl, an aralkyl, or cyclo aryl -- it is -- R'' -- fluoro alkyl, fluoro aryl, fluoro cycloalkyl, or a fluoro aralkyl -- it is -- X -- halide -- it is -- Z -- carboxylate or trifluoroacetate -- it is -- and --] whose w is a larger and integer smaller than 200 than 1

It is the approach of generating *****;

(a) 表面炭素と少なくとも一つの適切な試薬とを、式 [C_n H_L] R_m [式

Inside and each of R SO₃H, COOH, NH₂ and OH, CH(R') OH, CHO, CN COCl, halide, COSH, SH, COOR',
 $\text{Si R}'_3$, $\text{Si} \leftarrow \text{OR}' \rightarrow \text{R}'_{3-y}$,

SR', $\text{Si} \leftarrow \text{O-Si R}'_2 \rightarrow \text{OR}'$, R'', Li, Al R'₂, Hg-X,

TLZ2 and Mg-X from -- permutation nano CHU which is chosen and has] whose y is three or less integer it reacts under sufficient conditions to generate BU -- making --; -- and

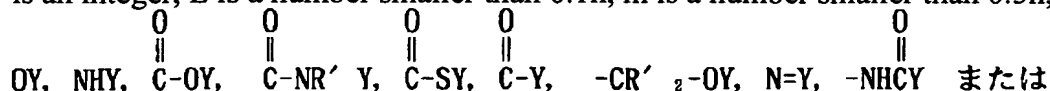
(b) 置換ナノチューブ [C_n H_L] R_m と少なくとも一つの適切な試薬とを、

式 [C_n H_L] A_m を有する官能化されたナノチューブを生成するのに

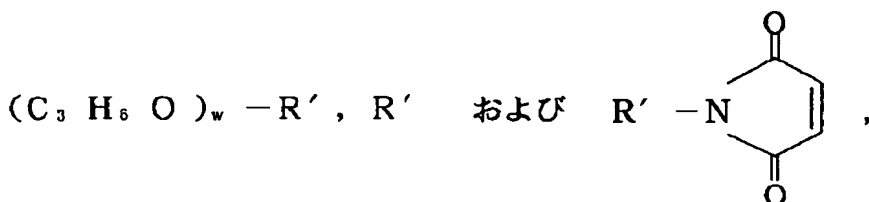
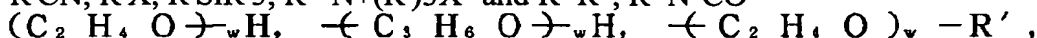
Said approach of including many processes made to react under sufficient conditions.

26. Formula [C_n H_L] A_m

carbon atom and C_n are surface carbon of a cylinder-like graphite nature nanotube substantially among [type, n is an integer, L is a number smaller than 0.1n, m is a number smaller than 0.5n, and it is each of A.



C=Y -- since -- it chooses -- having -- Y -- protein, a peptide, amino acid, an enzyme, an antibody, an oligonucleotide, a nucleotide, an antigen or an enzyme substrate, enzyme inhibitor, or the suitable functional group of the transition state analog of an enzyme substrate -- it is -- or R'- OH and R -- '-N (R')₂, R'SH, R'CHO, R'CN, R'X, R'SiR'₃, R' -N+(R')₃X- and R'-R'', R'-N-CO



since -- it chooses -- having -- R' -- hydrogen, alkyl, aryl, cycloalkyl, an aralkyl, or a SHIKUROA reel -- it is -- R'' -- fluoro alkyl, fluoro aryl, fluoro cycloalkyl, or a fluoro aralkyl -- it is -- X -- halide -- it is -- Z -- carboxylate or trifluoroacetate -- it is -- and --] whose w is a larger and integer smaller than 200 than 1

It is the approach of generating *****

置換ナノチューブ [C_nH_L] R_m と少なくとも一つの適切な試薬とを、式

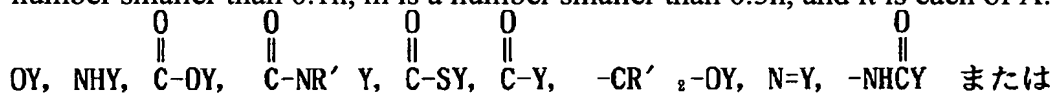
[C_nH_L] A_m を有する官能化されたナノチューブを生成するのに十分な条件

Including the process made to react in the bottom, it is the same and each of R is SO₃H, COOH, NH₂ and OH, CH(R') OH, CHO and CN, COCl, halide, COSH, SH, COOR', SR', and SiR'₃, Si-(OR')₃, R'₃, Si-(O-SiR')₂-OR', R'', L i,

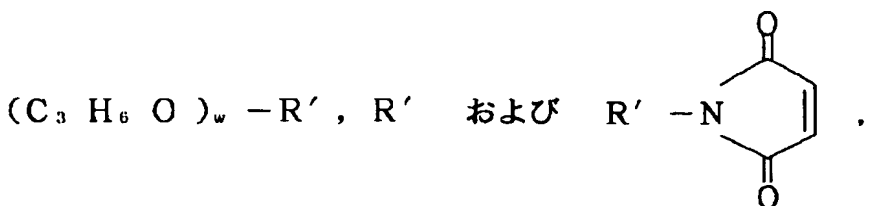
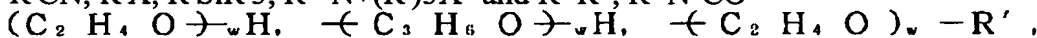
AlR'₂, Hg-X, TiZ₂, and Mg-X -- since -- said approach it is chosen and y is three or less integer.

27. Formula [C_nH_L] A_m

carbon atom and C_n are surface carbon of a cylinder-like graphite nature nanotube among [type at the real target which has larger die length / diameter ratio than 5, and a diameter smaller than 0.1micro, n is an integer, L is a number smaller than 0.1n, m is a number smaller than 0.5n, and it is each of A.



C=Y -- since -- it chooses -- having -- Y -- protein, a peptide, amino acid, an enzyme, an antibody, an oligonucleotide, a nucleotide, an antigen or an enzyme substrate, enzyme inhibitor, or the suitable functional group of the transition state analog of an enzyme substrate -- it is -- or R'- OH and R -- '-N (R')₂, R'SH, R'CHO, R'CN, R'X, R'SiR'₃, R' -N+(R')₃X- and R'-R'', R'-N-CO



since -- it chooses -- having -- R' -- hydrogen, alkyl, aryl, cycloalkyl, an aralkyl, or cyclo aryl -- it is -- R" -- fluoro alkyl, fluoro aryl, fluoro cycloalkyl, or a fluoro aralkyl -- it is -- X -- halide -- it is -- Z -- carboxylate or trifluoroacetate -- it is -- and --] whose w is a larger and integer smaller than 200 than 1

It is the approach of generating *****

置換ナノチューブ $[C_n H_L]_m R_m$ と少なくとも一つの適切な試薬とを、式

$[C_n H_L]_m A_m$ を有する官能化されたナノチューブを生成するのに十分な条件

Including the process made to react in the bottom, each of R is SO₃H, COOH, NH₂ and OH, CH(R') OH, CHO and CN, COCl, halide, COSH, SH, COOR', SR', and SiR'₃,

$Si \leftarrow OR' \rightarrow, R'_{3-y}, Si \leftarrow O-SiR'_2 \rightarrow OR', R'', Li,$

AlR'₂, Hg-X, TiZ₂, and Mg-X -- since -- said approach it is chosen and y is three or less integer.

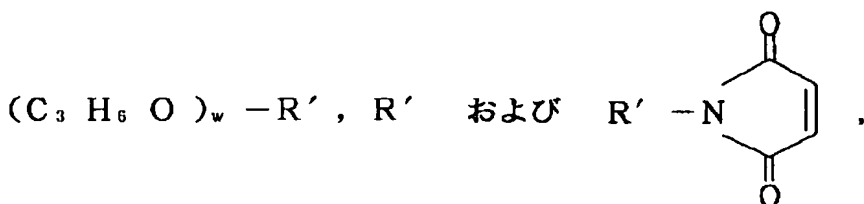
28. Formula $[C_n H_L]_m A_m$

carbon atom and C_n do not contain pyrolysis adhesion carbon substantially among [type -- substantial -- the surface carbon of a cylinder-like graphite nature nanotube -- it is -- n -- an integer -- it is -- L -- a number smaller than 0.1n -- it is -- m -- a number smaller than 0.5n -- it is -- each of A

$OY, NHY, \overset{O}{\parallel} C-OY, \overset{O}{\parallel} C-NR'Y, \overset{O}{\parallel} C-SY, \overset{O}{\parallel} C-Y, -CR'_2-OY, N=Y, -NHCY$ または

C=Y -- since -- it chooses -- having -- Y -- protein, a peptide, amino acid, an enzyme, an antibody, an oligonucleotide, a nucleotide, an antigen or an enzyme substrate, enzyme inhibitor, or the suitable functional group of the transition state analog of an enzyme substrate -- it is -- or R'- OH and R -- '-N (R')₂, R'SH, R'CHO, R'CN, R'X, R'SiR'₃, R' -N+(R')₃X- and R'-R'', R'-N-CO

$(C_2 H_4 O)_w H, \leftarrow C_3 H_6 O \rightarrow_w H, \leftarrow C_2 H_4 O \rightarrow_w -R',$



since -- it chooses -- having -- R' -- alkyl, aryl, cycloalkyl, an aralkyl, or cyclo aryl -- it is -- R" -- fluoro alkyl, fluoro aryl, fluoro cycloalkyl, or a fluoro aralkyl -- it is -- X -- halide -- it is -- Z -- carboxylate or trifluoroacetate -- it is -- and --] whose w is a larger and integer smaller than 200 than 1

It is the approach of generating *****

置換ナノチューブ $[C_n H_L]_m R_m$ と少なくとも一つの適切な試薬とを、式

$[C_n H_L]_m A_m$ を有する官能化されたナノチューブを生成するのに十分な条件

Including the process made to react in the bottom, each of R is SO₃H, COOH, NH₂ and OH, CH(R') OH, CHO and CN, COCl, halide, COSH, SH, COOR', SR', and SiR'₃,

$Si \leftarrow OR' \rightarrow, R'_{3-y}, Si \leftarrow O-SiR'_2 \rightarrow OR', R'', Li,$

AlR'₂, Hg-X, TiZ₂, and Mg-X -- since -- said approach it is chosen and y is three or less integer.

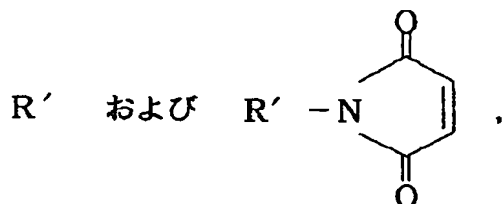
29. Formula $[C_n H_L]_m [R' - A]_m$

carbon atom and C_n are surface carbon of a cylinder-like graphite nature nanotube substantially among [type, n is an integer, L is a number smaller than 0.1n, m is a number smaller than 0.5n, R' is alkyl, aryl, cycloalkyl, an aralkyl, cyclo aryl, or Pori (alkyl ether), X is halide, and it is each of A.

$\text{OY, NHY, } \overset{\text{O}}{\parallel} \text{C-OY, } \overset{\text{O}}{\parallel} \text{C-NR' Y, } \overset{\text{O}}{\parallel} \text{C-SY, } \overset{\text{O}}{\parallel} \text{C-Y, } -\text{CR' }_2\text{-OY, N=Y, } \overset{\text{O}}{\parallel} \text{NHCY}$ または

C=Y -- since -- it chooses -- having -- Y -- protein, a peptide, amino acid, an enzyme, an antibody, an oligonucleotide, a nucleotide, an antigen or an enzyme substrate, enzyme inhibitor, or the suitable functional group of the transition state analog of an enzyme substrate -- it is -- or R'-OH and R'-NH_2 , R'SH , R'CHO , R' Si R' _3 , R'-R' , R'-N-CO , $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_w\text{H}$,

R'CN , and R'X , $\text{-(C}_3\text{H}_6\text{O)}_w\text{H}$, $\text{-(C}_2\text{H}_4\text{O)}_w\text{-R'}$, $(\text{C}_3\text{H}_6\text{O})_w\text{-R'}$,



since -- it chooses -- having -- R'' -- fluoro alkyl, fluoro aryl, fluoro cycloalkyl, or a fluoro aralkyl -- it is -- and -] whose Z is carboxylate or trifluoroacetate

It is the approach of generating *****,

☐ ID=000096

Including the process made to react under sufficient conditions to generate - BU, each of R is SO_3H , COOH , NH_2 and OH , CH(R') OH , CHO and CN , COCl , halide, COSH , SH , COOR' , SR' , and SiR' _3 ,

AlR' _2 , Hg-X , TlZ _2 , and Mg-X -- since -- said approach it is chosen and y is three or less integer.

30. Formula

carbon atom and C_n are surface carbon of a cylinder-like graphite nature nanotube substantially among [type. n is an integer, L is a number smaller than $0.1n$, and m is a number smaller than $0.5n$. a is zero or an integer smaller than 10. Each of R is SO_3H , COOH , NH_2 and OH , CH(R') OH , CHO and CN , COCl , halide, COSH , SH , COOR' , SR' , and SiR' _3 ,

AlR' _2 , Hg-X , TlZ _2 , and Mg-X -- since -- it chooses -- having -- y -- three or less integer -- it is -- R' -- alkyl, aryl, cycloalkyl, an aralkyl, or cyclo aryl -- it is -- X -- halide -- it is -- X' -- polykaryotic aromatic series, the poly hetero nucleus aromatic series, or a meta-ROPORI hetero nucleus aromatic series component -- it is -- R'' -- fluoro alkyl, fluoro aryl, fluoro cycloalkyl, or a fluoro aralkyl -- it is -- and --] whose Z is carboxylate or trifluoroacetate

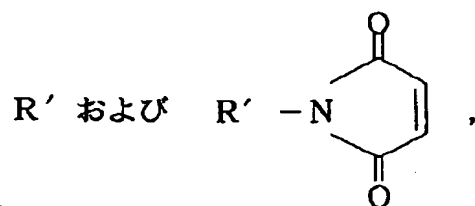
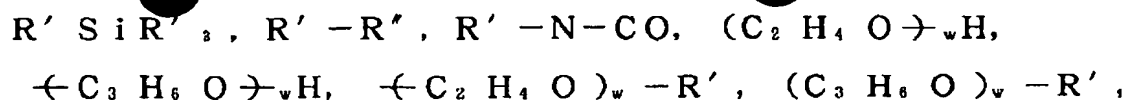
It is the approach of generating *****. Suitable macro circularization which is at least one on the front face of a graphite nature nanotube

合物を、式 $[\text{C}_n\text{H}_L]_m [\text{X' - R}_a]_m$ を有する官能化されたナノチューブを

Said approach of including the process made to adsorb under sufficient conditions generating.

31. Formula $[\text{C}_n\text{H}_L]_m [\text{X' - A}_a]_m$

carbon atom and C_n are surface carbon of a cylinder-like graphite nature nanotube substantially among [type, n is an integer, L is a number smaller than $0.1n$, m is a number smaller than $0.5n$, a is an integer smaller than 10,

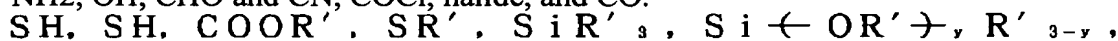


R'CN, and R'X,

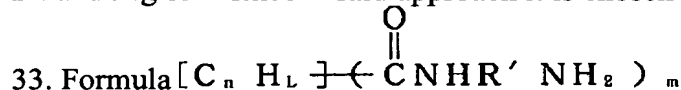
since -- it chooses -- having -- R' -- alkyl, aryl, cycloalkyl, an aralkyl, or cyclo aryl -- it is -- R" -- fluoro alkyl, fluoro aryl, fluoro cycloalkyl, or a fluoro aralkyl -- it is -- X -- halide -- it is -- X' -- polykaryotic aromatic series, the poly hetero nucleus aromatic series, or a meta-ROPORI hetero nucleus aromatic series component -- it is -- Z -- carboxylate or trifluoroacetate -- it is -- and --] whose w is a larger and integer smaller than 200 than 1 It is the approach of generating *****,

置換ナノチューブ $[C_n H_L \text{---} [X' - R_a]_m]$ と少なくとも一つの適切な試薬とを、式 $[C_n H_L \text{---} [X' - A_a]_m]$ を有する官能化されたナノチューブを

The process made to react is included under sufficient conditions to generate, and each of R is SO₃H, COOH, NH₂, OH, CHO and CN, COCl, halide, and CO.



Z₂ and Mg-X -- since -- said approach it is chosen and y is three or less integer.

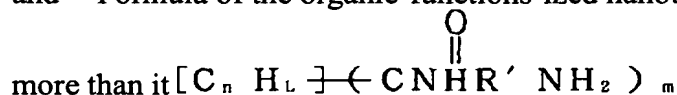


(carbon atom and C_n are surface carbon of a cylinder-like graphite nature nanotube substantially among a formula, n is an integer, and L is a number smaller than 0.1n, and m is a number smaller than 0.5n, and R' is alkyl, aryl, cycloalkyl, or cyclo aryl)

It is the approach of generating *****,

表面炭素と少なくとも一つの適切な試薬とを、式 $[C_n H_L \text{---} (COOH)]_m$

It is made to react under sufficient conditions to generate the organic-functions-sized nanotube which ****.; and -- Formula of the organic-functions-sized nanotube and the compound which has an amino group two or



Said approach including many processes made to react under sufficient conditions to generate the organic-functions-sized nanotube which ****.



carbon atom and C_n are surface carbon of a cylinder-like graphite nature nanotube substantially among [type. n is an integer, L is a number smaller than 0.1n, and m is a number smaller than 0.5n. It is the same and each of R is SO₃H, COOH, NH₂ and OH, CH(R')OH, CHO and CN, COCl, halide, COSH, SH, COOR', SR', and SiR'₃, Si $\leftarrow OR' \rightarrow$, R'_{3-y}, Si $\leftarrow O - SiR'_2 \rightarrow OR'$, R'', Li,

AlR'₂, Hg-X, TlZ₂, and Mg-X -- since -- it chooses -- having -- y -- three or less integer -- it is -- R' -- hydrogen, alkyl, aryl, cycloalkyl, an aralkyl, or cyclo aryl -- it is -- R" -- fluoro alkyl, fluoro aryl, fluoro

cycloalkyl, or a fluoro aralkyl -- it is -- X -- halide -- it is --] whose Z is carboxylate or trifluoroacetate
 It is the approach of generating *****. Surface carbon and at least 1 which can receive a nanotube as a
 substrate 一つの酵素とを反応させ、そして式 $[C_n H_L \text{---} R_m]$ の物質の組成物を生じる化学

Said approach including the process which performs under permissible conditions that this at least one enzyme reacts this reaction under aqueous suspension.

35. The approach of claim 34 that R_m is -OH and an enzyme is CHITORO chromium P450 enzyme or a peroxidase.

36. Formula $[C_n H_L \text{---} (NH_2)]_m$

(carbon atom and C_n are surface carbon of a cylinder-like graphite nature nanotube substantially among a formula, n is an integer, and L is a number smaller than $0.1n$, and m is a number smaller than $0.5n$)

the approach of generating ***** -- it is -- surface carbon is reacted with a nitric acid and a sulfuric acid -- making -- a nitric-acid-ized nanotube -- generating --; -- and
 硝酸化ナノチューブを還元して $[C_n H_L \text{---} (NH_2)]_m$ を生成する

Said approach including many processes.

37. Approach a functional group permutes the front face of a carbon nanotube including contacting a carbon nanotube to the effective dose of the reagent which can permute a functional group by homogeneity on the front face of this carbon nanotube with homogeneity.

38. The approach of claim 37 that reagent is a phthalocyanine.

39. The approach of claim 38 that reagent is a nickel (II) phthalocyanine tetra-sulfonic-acid (tetra-sodium salt) or 1, 4, 8, 11, 15, 18 and 22, 25-octabutoxy-29H, and 31H-phthalocyanine.

40. Surface qualification carbon nanotube manufactured by the approach including contacting a carbon nanotube to the effective dose of the reagent for permuting a functional group on the front face of this carbon nanotube.

41. The surface qualification carbon nanotube of claim 40 whose reagent is a phthalocyanine.

42. The surface qualification carbon nanotube of claim 42 whose reagent is a nickel (II) phthalocyanine tetra-sulfonic-acid (tetra-sodium salt) or 1, 4, 8, 11, 15, 18 and 22, 25-octabutoxy-29H, and 31H-phthalocyanine.

43. The method including the process at which the nanotube which supports a NHS ester group, and protein are contacted under sufficient conditions to form covalent bond between NHS ester and a proteinic amine radical of making protein connect with a nanotube.

44. The electrode containing the organic-functions-ized nanotube.

45. The electrode of claim 44 whose electrode is porous FURUSURU 1 electrode.

46. The electrode of claim 45 whose organic-functions-ized nanotube is a phthalocyanine permutation nanotube.

47. from at least two functionality fibrils with which it is foam which consists of multiplex [of the network structure of the organic-functions-ized nanotube], and the network structure of the organic-functions-ized aforementioned nanotube is connected by at least one linker component by the functional group -- becoming -- said linker component -- two functionality or polyfunctional -- said foam which is either.

48. It is Approach of Separating Object Solute from Sample. Surface Carbon of Graphite Nature Nanotube is Embellished with Bottom of Sufficient Conditions to Generate Organic-Functions-Ized Nanotube Physically or Chemically with at Least One Suitable Reagent;

the substrate in which an object solute and association are possible on the organic-functions-ized nanotube -- fixing --; -- and -- Said approach of including many processes which put a permutation nanotube to an object solute content fraction under sufficient conditions for an object solute combining with the substrate fixed on the organic-functions-ized nanotube.

49. The approach of claim 48 that an object solute is protein.

50. The approach of claim 49 which includes the process which collects the organic-functions-ized nanotubes further.

51. The approach of claim 48 which has the organic-functions-ized nanotube in the gestalt of a porous mat.

52. The approach of claim 48 which has the organic-functions-ized nanotube in the gestalt of a packed column.

- 53. The approach of claim 48 that association is reversible.
- 54. The approach of claim 48 that association is an ionicity interaction.
- 55. The approach of claim 48 that association is a hydrophobic interaction.
- 56. Association comes out through unique molecular recognition, and it is the approach of a certain claim 48.
- 57. The polymer bead which has the diameter smaller than 25micro connected with the plurality of the organic-functions-ized nanotube and which essentially contains a globular form bead.
- 58. The polymer bead of claim 57 whose bead is magnetism.
- 59. At Least One Reagin is the Approach of Carrying Out Catalyst of the Reaction Converted into at Least One Product. Surface Carbon of Graphite Nature Nanotube is Embellished with Bottom of Sufficient Conditions to Generate Organic-Functions-Ized Nanotube Physically or Chemically with at Least One Suitable Reagent.; the biocatalyst which can carry out the catalyst of the reaction on the organic-functions-ized nanotube -- fixing - -; -- and -- Said approach including many processes at which the organic-functions-ized nanotube and reagin (an unit or plurality) are contacted under sufficient conditions for reagin (an unit or plurality) to convert into a product (an unit or plurality).
- 60. The approach of claim 59 which includes further the process which collects the organic-functions-ized nanotubes after a reaction is completed.
- 61. The approach of claim 59 which has the organic-functions-ized nanotube in the gestalt of a porous mat.
- 62. The approach of claim 59 which has the organic-functions-ized nanotube in the gestalt of a packed column.
- 63. The approach including the process which combines the end amino group of a peptide with a nanotube through a reversible linker of compounding a peptide.
- 64. The approach of claim 63 that a linker is 4-(hydroxymethyl) phenoxyacetic acid.

[Translation done.]

*** NOTICES ***

JPO and NCIPi are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.**** shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

Organic-functions-ized nanotube Cross reference of related application This application is the U.S. application 08th for which it applied on December 8, 1994 / No. 352,400.

It is ***** continuation application and the contents of original application are incorporated into this application specification.

field of invention large -- this invention -- a chemical permutation -- or tubular fullerene (a "BAKKI tube" is usually called) and fibril are also included about the graphite nature nanotube organic-functions-ized by adsorption of a functionality component. In more detail, or this invention is uniformly permuted with the ununiformity by the chemical constituent, a specific cyclic compound is related with this organic-functions-ized fibril or the complex structure (complex structure) which is connected mutually and changes concerning [and] the graphite nature nanotube currently adsorbed.

This invention relates to the approach of introducing a functional group into the front face of this fibril again. Background of invention This invention is often a vacuum evaporatio no growth carbon fiber (vapor grown carbon fiber).

It belongs to the field of the submicron graphite nature fibril called. Carbon fibril is desirable further more desirable bar MIKYURA [smaller than 0.5micro] smaller than 0.2micro with a diameter smaller than 1.0micro. Carbon It is a deposit (vermicular carbon deposit). Although they exist with various gestalten, it is manufactured through catalytic cracking in the surface of metal of various carbon content gases. This bar MIKYURA Carbon The deposit has almost been observed since the appearance of an electron microscope. investigation and data of a stage early enough -- Baker and Harris, Chemistry and Physics of Carbon, Waker and Thrower ed., and Vol. -- it is found out by 14, 1978, and p.83, and it is included in this application detail in the letter. Moreover, with reference to Rodriguez, N., J.Mater.Research, Vol.8, and p.3233 (1993), it is also incorporated into this application specification.

Endo and others (Obelin, A., and Endo, M., J.of Crystal Growth, Vol.32 (1976), pp.335 -349 reference, and it are incorporated into this application specification) solved the fundamental mechanism of growth of this carbon fibril in 1976. Under existence of a hydrocarbon content gas, it turned out that it originates in the metal catalyst particle which it comes to supersaturate in carbon. The graphite core to which ordering of the shape of a cylinder was carried out is extruded, and according to Endo and others, it will be immediately covered with the outer layer of pyrolysis adhesion graphite (pyrolytically deposited graphite). A diameter exceeds 0.1micro and, more generally these fibrils that have a pyrolysis overcoat are 0.2-0.5micro.

It succeeded in a tenant's (Tennent) U.S. Pat. No. 4,663,230 (this being incorporated into this application specification) growing up the graphite core to which ordering of the shape of a cylinder which is not polluted with pyrolytic carbon was carried out in 1983. Therefore, a tenant's invention offered acquisition on the front face of graphite where ordering of the smaller diameter is typically carried out acquisition of 35-700A (0.0035-0.070micro) fibril, and when ["when it grows up (asgrown)"]. However, although it did not have the outer layer of pyrolytic carbon, the fibril carbon of the structure which is not more perfect also grew.

The organic-functions-ized fibril in this application, a BAKKI tube, and a nanotube are distinguished from the continuation carbon fiber marketed as reinforcing materials. In contrast with the fibril which cannot avoid being limited although an aspect ratio is large to a desirable thing, an aspect ratio (ratio of length to diameter) is at least 104, and a continuation carbon fiber is often 106 or more. Moreover, it is farther [than that of fibril] large, and the diameter of a continuation fiber is >1.0micro and, typically, are always 5-7micro.

A continuation carbon fiber is manufactured by the pyrolysis of organic precursor fiber, usual, nylon, polyacrylonitrile (PAN), and pitch **. Therefore, probably, they include the hetero atom inside the structure. "When manufactured (as made)", the graphite property of the carbon fiber of continuation is various, however those fibers may receive a graphite chemically-modified degree later. If it exists, a difference of the amount of preferred orientation and degree of crystallinity, the possibility of the existence of a hetero atom, and an experience according [an absolute difference of a substrate diameter] to a continuation fiber further will not be [whenever / graphite-ized / of a graphite flat surface] useful to anticipation of nano fiber chemistry.

The carbon fibril which has the graphite outer layer of parallel a large number substantially on a fibril shaft is indicated by a tenant's U.S. Pat. No. 4,663,230 without containing the thermal carbon jacket of continuation. For example, they will be characterized as what has a perpendicular c-axis (that is, it is substantially perpendicular to those cylinder shafts) to the tangent of the curve layer of graphite. Generally they have the diameter of 0.1micro or less, and the die length / diameter ratio of at least 5. Desirably, they do not contain substantially the pyrolysis adhesion carbon brought about from the thermal carbon jacket of continuation, i.e., the pyrolysis of the charge of a gas feed material used for manufacturing them.

the ** which does not contain a thermal jacket in a tenant's U.S. Pat. No. 5,171,560 (this is included in this application detail in the letter) -- a fibril shaft -- substantial -- an parallel graphite layer -- having -- the projection of said layer on said fibril shaft -- a fibril diameter -- even if few, the distance stretch ***** carbon fibril for two is indicated. Typically, it is a cylinder-like graphite nature nanotube and, as for it, the c-shaft becomes the real target with which this fibril has a fixed diameter substantially from the sheet of the graphite of the shape of a cylinder of a substantially perpendicular place to the cylinder shaft. They do not contain pyrolysis adhesion carbon substantially and have a diameter smaller than 0.1micro, and larger larger die length / diameter ratio than 5. These fibrils are interested in in the first place also in this invention.

The further detail about generation of the carbon fibril aggregate The United States patent application No. 149,573 of Snyder and others of January 28, 1988 application (Snyder), And PCT application US 89/No. ("carbon fibril") 00322 WO 89/07163 and United States patent application No. 413,837 of Moi and others of September 28, 1989 application (Moy) of January 28, 1989 application, the [and / of September 27, 1990 application / PCT application] -- it is found out in the indication of US90/No. ("fibril aggregate and its process") 05498 WO91/05089**. These are transferred by each to the same grantee as this invention, and all are incorporated into this application specification.

The United States patent application 07th of Moi and others of May 22, 1992 application / No. 887,307 [(this is incorporated into this application specification), and] The fibril manufactured as an aggregate which has various macroscopic gestalten is indicated. (When it measures by scanning electron microscope detection method) There ; which is entangled at random mutually so that they may form the ball with which the fibril similar to the blow hole (bird nest) ("BN") of a bird became entangled Or exist as the aggregate which has the same relative alignment substantially and has the appearance of a worsted yarn (combed yarn) ("CY") and which consists of a straight bundle to distorted carbon fibril or it bent slightly. For example, the major axis of each fibril is; prolonged in the same direction as it of the fibril surrounded in the bundle, or "opening network (open net)" ("ON") (irrespective of each deflection or torsion).

Or it bent slightly, it exists as the aggregate which is entangled loosely mutually so that structure may be formed and which is straightly constituted to distorted fibril. Although the degree of a tangle of fibril is larger than what is observed in the worsted yarn (each fibril has the same relative alignment substantially)-aggregate in opening network structure, it is fewer than that of the blow hole of a bird. CY aggregate and CN aggregate are distributed more easily than BN, and they are carried out, and if that is effective in manufacture of the complex with which the whole structure is expected a uniform property, it closes them.

The carbon flat surface in the cross section of a graphite nature nanotube wears a herringbone (herring bone) appearance on a distance stretch ***** case with the projection of the graphite layer on a fibril shaft smaller than two fibril diameters. It is a fish bone about these. Fibril is called. U.S. Pat. No. 4,855,091 (this is incorporated into this application specification) of GIASU (Geus) is a fish bone which does not contain a pyrolysis jacket substantially. The manufacture procedure of fibril is offered. These fibrils are also effective in operation of this invention.

The carbon nanotube which has a gestalt similar to the fibril which grew by the above-mentioned catalysis grew with the hot carbon arc (Iijima and Nature 354, 56, and 1991). Now, generally it is accepted that these arc

growth nanotube has the same gestalt as a tenant's catalyst growth fibril (Weaver and Science 265 1994). Carbon which carried out arc growth A nanotube is also effective in this invention.

In the United States patent application No. (this is incorporated into this application specification) 351,967 of McCarthy and others (McCarthy) for whom it applied on May 31, 1989 Sufficient reaction condition to indicate the approach of oxidizing the front face of carbon fibril, and for it oxidize the front face of fibril It includes contacting fibril to the oxidizer which a sulfuric acid (H_2SO_4) and potassium chlorate ($KClO_3$) also include under for example, (time amount, temperature, and a pressure). The fibril which oxidized according to McCarthy's and others approach has oxidized to Mr. un-1, namely, the carbon atom is permuted by the mixture of carboxyl, an aldehyde, a ketone, a phenol, and other hydrocarbon groups.

Fibril oxidized to Mr. un-1 also by processing by the nitric acid. Generation of the oxidization fibril containing the mixture of a functional group is indicated by international application PCT/US 94/10168. Moreover, M.S. hoe gene birds (Hoogenvaad) ("metal catalyst supported on the new carbon base material (Metal Catalysts supported on a Novel Carbon Support)" shown by the 6th international congress about the scientific foundation for manufacture of a heterogeneity catalyst held by BURUSSERU of Belgium in September, 1994) have found out that it is advantageous to manufacture of fibril support noble metals to oxidize a fibril front face first with a nitric acid. In the manufacture of a precious metal catalyst by which this pretreatment by the acid was supported with carbon, it is a standard process, and if the usual source of this carbon is given in that case, it will be helpful to make into clarification the front face of the ingredient which is not desirable the same with organic-functions-izing it.

In the exhibited research, in order to prove that McCarthy and bending consisted of radicals with various (McCarthy and Bending, Polymer Preprints ACS Div.of Polymer Chem.30(1) 420 (1990)) and front faces which oxidized, the derivative of oxidization fibril was manufactured. **, such as a compound which they manufactured, a phenylhydrazone, halo aromatic series ester, and thallium salt, were chosen for reasons of having the reinforcement and the mark which is identified easily and distinguished of those analysis usefulness, for example, color skillfully, or a certain others. These compounds were not isolated and, unlike the derivative indicated here, do not have semantics in practice.

Many applications are found out by carbon fibril and the carbon fibril aggregate as indicated by the above-mentioned patent and patent application, but if a fibril front face is organic-functions-ized, the important application from which a large number differed will be developed. homogeneity or an ununiformity -- it makes it possible for one of organic-functions-ization to enable the interaction of the organic-functions-ized fibril and various substrates to generate the peculiar constituent of the matter which has a peculiar property, and to build the fibril structure based on association between the functionality sites on the front face of fibril.

The purpose of invention The first purpose of this invention is offering the fibril with which the front face's is embellished by homogeneity or the ununiformity (modified), as it has the fibril organic-functions-ized, i.e., the functionality chemical entity combined with it.

Another related purpose of this invention is offering the fibril by which the front face's is organic-functions-ized by the reaction with the chemical medium to oxidize or other chemical media.

Still more nearly another related purpose of this invention is offering the fibril which is based on physical adsorption of the kind which the front face's is based on a chemical reaction, or has chemical reactivity in itself, or is uniformly embellished by either.

Still more nearly another purpose of this invention is offering the fibril which the front face's is embellished by oxidization and is further embellished by the reaction with a functional group.

Or fibril can react to the chemical group in various substrates chemically, still more nearly another related purpose of this invention is offering the fibril with which the front face's is embellished by the functional group of a certain range so that it can join together physically.

Still more nearly another related purpose of this invention is offering the complex structure of fibril by making the functional group on fibril connect mutually according to the linker chemical action of a certain range.

Still more nearly another related purpose of this invention is offering the approach of making a seed sticking to the front face of the approach of embellishing a fibril front face chemically, and fibril physically, as the functionality component combined with the front face of fibril is offered in each case.

Still more nearly another purpose of this invention is offering the de-novo-synthesis object of the matter which used fibril organic-functions-ized as the base material.

Easy explanation of a drawing Drawing 1 is a plane. Fibril, carboxy It is a graph showing assay of BSA association to fibril and the fibril embellished with PEG.

Drawing 2 is a graph showing assay of beta lactoglobulin association to the carboxy fibril and PEG qualification fibril which were manufactured by two different approaches.

Drawing 3 is a tertiary amine. Fibril It is a graph showing the elution profile of the bovine serum albumin (bovine serum albumin) (BSA) in a column.

Drawing 4 is quaternary amine. Fibril It is a graph showing the elution profile of BSA in a column.

Drawing 5 is the reaction sequence for manufacturing the DIN DORIMA nature fibril (dendrimeric fibril) of a lysine system.

Drawing 6 is a graph showing the cyclic voltamogram use by the flow cell of iron phthalocyanine qualification fibril is proved [cyclic voltamogram].

Drawing 7 is the reaction sequence for manufacturing bifunctional fibril by addition of a NE-(tert-butoxycarbonyl)-L-lysine.

Drawing 8 is a graph showing the result of composition of the ethyl butylate which uses the lipase fixed by fibril.

Drawing 9 is a graph showing the result of having used AP inhibitor qualification fibril and having separated AP from alkaline phosphatase (AP) and the mixture of the beta-galactosidase (betaG).

Drawing 10 is a graph showing the result of having separated betaG from the mixture of AP and betaG using betaG qualification fibril.

Detailed description This invention is a formula widely. $[C_n H_L \rightarrow R_m]$

n is an integer among [type, L is a number smaller than 0.1n, m is a number smaller than 0.5n, each of R is the same, and it is SO₃H, COOH, NH₂ and OH, R'CHOH, CHO and CN, COCl, halide, COSH, SH, COOR', SR', and SiR'₃, S i \leftarrow O R' \rightarrow , R' \rightarrow , S i \leftarrow O - S i R' \rightarrow O R' , R' , L i ,

AlR'₂, Hg-X, TiZ₂, and Mg-X -- since -- it chooses -- having -- y -- three or less integer -- it is -- R' -- hydrogen, alkyl, aryl, cycloalkyl or an aralkyl, cyclo aryl, or Pori (alkyl ether) -- it is -- R'' -- fluoro alkyl, fluoro aryl, fluoro cycloalkyl, a fluoro aralkyl, or cyclo aryl -- it is -- x -- halide -- it is -- and --] whose Z is carboxylate or trifluoroacetate

It is related with the compost which ****.

A carbon atom and C_n are surface carbon of a cylinder-like graphite nature nanotube at the real target which has a fixed diameter substantially. A nanotube includes larger die length / diameter ratio than 5, and what is smaller than 0.5micro that have a desirable diameter smaller than 0.1micro. It can also be a cylinder-like graphite nature nanotube substantially, and a nanotube can be a more desirable thing which does not contain pyrolysis adhesion carbon substantially and which has the sheet of the graphite of the shape of a perpendicular cylinder on the cylinder shaft substantially [the projection of the graphite layer on a fibril shaft / the distance stretch ***** thing for at least two of a fibril diameter and/or its c-axis]. These constituents are uniform in each of R being the same.

The nanotube permuted by the ununiformity is also manufactured. These are formulas. $[C_n H_L \rightarrow R_m]$

(The compost on condition of COOH not existing, when each of that each of R does not contain oxygen or R is an oxygen content radical although n, L, m, R, and the nanotube itself are as the above-mentioned definition among a formula) is included.

Formula $[C_n H_L \rightarrow R_m]$

(-- a formula -- inside -- n -- L -- m -- R -- and -- and -- R -- ' -- the above -- being the same -- semantics -- having -- and -- carbon -- an atom -- five -- being large -- die length -- / -- a diameter -- a ratio -- having -- a fish -- a bone -- -- fibril -- a front face -- carbon -- it is --) -- having -- organic functions ---izing -- having had -- a nanotube -- this invention -- including -- having . These are uniformly permuted by the ununiformity. Preferably, a nanotube does not contain a thermal jacket and has a diameter smaller than 0.5micro.

Moreover, in this invention, it is a formula. $[C_n H_L \rightarrow [R' - R]_m]$

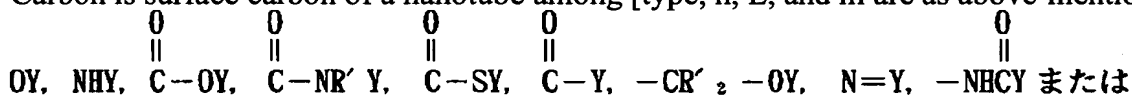
The organic-functions-ized nanotube which has (n, L, m, R', and R have the same semantics as the above among a formula) is also included. A carbon atom and Cn are surface carbon of a cylinder-like graphite nature nanotube at the real target which has a fixed diameter substantially. With larger die length / diameter ratio than 5, a nanotube has a diameter [smaller than 0.5micro] smaller than 0.1micro preferably. A nanotube may be a nanotube which does not contain pyrolysis adhesion carbon substantially. As for a nanotube, the projection of the graphite layer on a fibril shaft has the sheet of the graphite of the shape of a perpendicular cylinder on the cylinder shaft more preferably substantially [the distance stretch ***** thing for at least two of a fibril diameter, and/or its c-axis].

the nanotube permuted by the nanotube permuted by homogeneity, and the ununiformity -- surface carbon Cn has reacted also in which. In graphite, most carbon atoms in the surface layer of graphite nature fibril are basal plane carbon so that that may be right. Basal plane carbon is inactive comparatively to a chemical attack. The edge carbon atom of a graphite flat surface and a carbon atom of same class exist in the place where for example, the graphite flat surface has not extended completely around fibril in a defective site (see Urry, Elementary Equilibrium Chemistry of Carbon, Wiley, and New York1989 about the argument on the carbon of an edge and a basal plane).

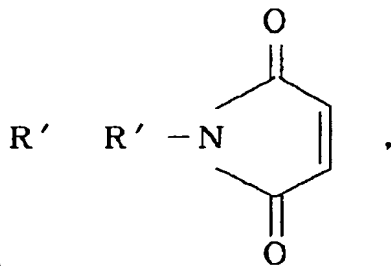
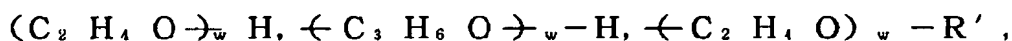
Probably, in a defective site, the edge of the inner layer more under a nanotube or the carbon of a basal plane is exposed. the basic surface of the lower layer which will come out and exist which has exposed the vocabulary and surface carbon in the defective site of the basic surface of the outermost layer of a nanotube, and not only the total carbon of an edge but the outermost layer, and/or an edge -- both of the carbon is included. Edge carbon is reactivity, and in order to fill a carbon valence, it must contain a hetero atom or a radical of a certain kind.

The above-mentioned permutation nanotube may be organic-functions-ized further advantageously. This compost is a formula. [C_n H₁ + A_n

Carbon is surface carbon of a nanotube among [type, n, L, and m are as above-mentioned, and it is each of A.



C=Y -- since -- it chooses -- having -- Y -- protein, a peptide, amino acid, an enzyme, an antibody, a nucleotide, an oligonucleotide, an antigen or an enzyme substrate, enzyme inhibitor, or the suitable functional group of the transition state analog of an enzyme substrate -- it is -- or R'-OH and R'-NR'₂, R'SH, R'CHO, R'CN, and R'X, R' N⁺ (R')₃ X⁻, R' Si R'₃, R' Si (OR')₃, R'₃, ,



since -- it chooses -- having -- And] whose w is a larger and integer smaller than 200 than 1 ***** is included.

The diameter of a carbon atom and Cn is surface carbon of a cylinder-like graphite nature nanotube substantially at a fixed real target. A nanotube includes what has larger die length / diameter ratio than 5, and a desirable diameter [smaller than 0.1micro] smaller than 0.05micro. A nanotube can be a cylinder-like graphite nature nanotube again at the real target which does not contain pyrolysis adhesion carbon substantially. more -- desirable -- them -- the projection of the graphite layer on a fibril shaft -- distance stretch ***** for at least

two of a fibril diameter -- it is characterized by things and/or they consist of sheets of the graphite of the shape of a perpendicular cylinder substantially [the c-axis] on the cylinder shaft. Preferably, a nanotube does not contain a thermal overcoat and has a diameter smaller than 0.5micro.

Structure $[C_n H_L \text{---} [R' - R]_m]$

A ***** nanotube is a formula. $[C_n H_L \text{---} [R' - A]_m]$

It may be organic-functions-ized so that the compost which **** may be generated. n, L, m, R', and A are as the above-mentioned definition among a formula. A carbon atom and Cn are surface carbon of a cylinder-like graphite nature nanotube at the real target which has a fixed diameter substantially. A nanotube includes what has larger die length / diameter ratio than 5, and a desirable diameter [smaller than 0.5micro] smaller than 0.1micro. A nanotube can be a cylinder-like graphite nature nanotube again at the real target which does not contain pyrolysis adhesion carbon substantially. more -- desirable -- them -- the projection of the graphite layer on a fibril shaft -- distance stretch ***** for at least two of a fibril diameter -- it is characterized by things and/or they consist of sheets of the graphite of the shape of a perpendicular cylinder substantially [the c-axis] on the cylinder shaft. Preferably, a nanotube does not contain a thermal overcoat and has a diameter smaller than 0.5micro.

The nanotube currently adsorbed in a ring compound of a certain kind also includes the compost of this invention. These are formulas. $[C_n H_L \text{---} [X - R_a]_m]$

The compost of the matter of (n is an integer among a formula, L is a number smaller than 0.1n, m is a number smaller than 0.5n, a is zero, or is a number smaller than 10, and X is polykaryotic aromatic series, the poly hetero nucleus aromatic series, or a meta-ROPORI hetero nucleus aromatic series component, and R is as above-mentioned) is included. A carbon atom and Cn are surface carbon of a cylinder-like graphite nature nanotube at the real target which has a fixed diameter substantially. A nanotube includes what has larger die length / diameter ratio than 5, and a desirable diameter [smaller than 0.5micro] smaller than 0.1micro. a nanotube does not contain pyrolysis adhesion carbon substantially again -- substantial -- a cylinder-like graphite nature nanotube -- it can be -- and -- more -- desirable -- the projection of the graphite layer on said fibril shaft - - distance stretch ***** for at least two of a fibril diameter -- the thing characterized by things and/or its c-axis can have the sheet of the graphite of the shape of a perpendicular cylinder substantially on the cylinder shaft. Preferably, a nanotube does not contain a thermal overcoat and has a diameter smaller than 0.5micro.

A desirable ring compound is ADOBANSUDO of a cotton and Wilkinson. Organic It is a plane large cyclic compound as indicated by 76 pages of chemistry (Cotton and Wilkinson, Advanced Organic Chemistry). More desirable cyclic compounds are Pori Phi Lynne and a phthalocyanine.

The adsorbed cyclic compound may be organic-functions-ized. This constituent is a formula.

$[C_n H_L \text{---} [X - A_a]_m]$

The compound of (m, n, L, a, X, and A are as the above-mentioned definition among a formula, and carbon is surface carbon of a cylinder-like graphite nature nanotube substantially as above-mentioned) is included.

The carbon fibril organic-functions-ized as mentioned above may be incorporated into a matrix. Preferably, a matrix is an organic polymer (for example, heat-curing resin, for example, epoxy, bismaleimide, polyamide, or polyester resin; thermoplastics; reaction-injection-molding resin; or elastomer, for example, natural rubber, styrene-butadiene-rubber, or cis- - 1, 4-polybutadiene); inorganic polymer, for example, a polymer nature inorganic oxide, for example, glass, a metal (for example, lead or copper), or a ceramic ingredient (for example, Porto land cement). A bead may be formed from the matrix which has incorporated fibril. The organic-functions-ized fibril can be combined with the outside surface of the organic-functions-ized bead in an alternative.

Although he does not plan to restrain in the specific theory, since the functional group (especially hydroxy ** is an amine radical) with which it was embellished since the surface characteristic by which reforming was carried out had the more good miscibility with a polymer couples the organic-functions-ized fibril directly with a polymer as an end group, it is well distributed by the inside of the system of a polymer. By this technique, it makes it easy to distribute a polymer system like a polycarbonate, polyurethane, polyester, or a

polyamide/imide with the adhesion which it coupled [adhesion] directly with fibril and had fibril improved. This invention is carbon again. It is carbon by making the reagent which is made to carry out time amount contact, and is further suitable in said fibril although [which adds a functional group to an oxidation front face] it is enough to oxidize the front face of said fibril in fibril and a strong oxidizing agent contact. It is in the approach of acting as the ** people of the functional group on the surface of fibril. An oxidizer consists of a solution of the alkali-metal chlorate in strong acid in the desirable mode of this invention. In another mode of this invention, an alkali-metal chlorate is a sodium chlorate or potassium chlorate.

In a desirable mode, the strong acid used is a sulfuric acid. Sufficient time amount for oxidation is about 0.5 hours - about 24 hours.

別の好ましい態様においては、式 $[C_nH_L-CH(R')OH]_m$

The constituent which has (the inside of a formula, n and L, R', and m are as the above-mentioned definition) is generated by making R'CH₂OH react with the surface carbon of a nanotube under existence of a radical initiator like ***** NZOIRU.

This invention is in the approach of combining covalent bond by forming, between NHS ester and the proteinic amino group about protein at the nanotube embellished by NHS ester again.

This invention is in the approach of generating the network structure of carbon fibril including contacting time amount carbon fibrils and oxidizing agents enough again oxidizing the front face of carbon fibril, contacting the carbon fibril by which scaling was carried out to the reagent suitable for adding a functional group to the front face of carbon fibril, and contacting further the fibril formed into surface organic functions to a cross linking agent effective in generating the network structure of carbon fibril. A desirable cross linking agent is polyol, polyamine, or polycarboxylic acid.

The organic-functions-ized fibril is effective also in manufacturing the hard network structure of fibril. The three-dimensions network structure good [acid organic-functions-ized] and distributed may be stabilized by carrying out the crosslinking bond of the acid radical (interchange-fibril) by polyol or the PORIA amine, and forming hard network structure.

This invention includes the three-dimensions network structure formed by making the fibril by which this invention was organic-functions-ized connect again. These complex includes at least two organic-functions-ized fibrils which was connected by one or the linker beyond it containing direct coupling or a chemical entity. These network structures constitute the porous medium of a notably uniform equal aperture. They are effective as an adsorbent, a catalyst base material, and a demarcation membrane.

the clearance between these fibrils -- magnitude and a configuration -- also in which, also although kicked, they can be considered as porosity and characterized by the approach used although [by which a porous medium is characterized] it was irregular. The magnitude of the clearance in this network structure is controllable with the concentration of distribution of fibril, level, and the concentration and chain length of a cross linking agent.

This ingredient may be adjusted so that it can act as a structured catalyst base material and the molecule of specific magnitude may be eliminated or included. Besides the usual industrial use catalyst, they have an application special as a porous base material of the big pore for biocatalyst (biocatalyst).

Hard network structure can serve also as a frame in the living body imitation system for molecular recognition. This system is indicated by U.S. Pat. No. 5,110,833 and the international patent official report WO 93/No. 19844. The suitable selection about a cross linking agent and a complexing agent enables stabilization of a unique molecule framework.

How to organic-functions-ize a nanotube The fibril organic-functions-ized by the homogeneity of this invention can be directly manufactured by sulfonation, the electrophilic addition on the deoxygenated front face of fibril, and meta-rhe SHON. When using an arc growth nanotube, huge purification may be needed in advance of organic-functions-izing. Eve Soon and others has given the procedure for (Ebbesen et al., Nature 367 519 (1994)) and this purification.

Preferably, carbon fibril is processed before contacting them to an organic-functions-ized agent. Probably, this processing includes distributing fibril in a solvent.

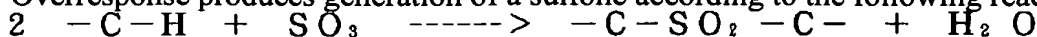
If based on a case, carbon fibril is filtered and dried in advance of the further contact.

1. Sulfonation A background technique is :March, J.P., Advanced Organic Chemistry, 3rd Ed. and Wiley which are indicated by the following reference, New York 1985;House, H., Modern Synthetic Reactions, 2nd Ed.,

Benjamin/Cummings, Menlo Park, and CA 1972.

Activated C-H (C-H of aromatic series is also contained) association can sulfonate SO₃ using the fuming nitric acid (oleum) which is the solution of the concentrated sulfuric acid contained to 20%. the usual approach -- an oleum -- using it -- T -- it comes out through the liquid phase in about 80 degrees C, and existing :, however activated C-H coupling can also be sulfonated using SO₃ in an inactive aprotic solvent, or SO₃ in a vapor phase. The reaction is as follows. : $-\text{C}-\text{H} + \text{SO}_3 \longrightarrow -\text{C}-\text{SO}_3\text{H}$

Overresponse produces generation of a sulfone according to the following reaction. :



Example 1 Activation of C-H coupling by use of a sulfuric acid The reaction was performed in the gaseous phase and the solution and a significant difference was not produced in a result. The vapor phase reaction was performed in the water Hiraishi English tubing reactor heated at the Lindbergh furnace. Many ROFURASUKO equipped with a gas inflow / excurrent canal which contains SO₃20% in concentrated sulfuric acid was used as SO₃ source.

; tap hole which paid the weighing capacity sample of the fibril in a porcelain boat (BN or CC) into 1 inch tubing which equipped the gas inlet was connected to the concentrated-sulfuric-acid bubbler trap (bubbler trap). The flash plate of the argon was carried out to the whole reactor for 20 minutes, removing all air, the sample was heated at 300 degrees C for 1 hour, and residual moisture was removed. Temperature was adjusted to reaction temperature under the argon after desiccation.

When predetermined temperature was stabilized, SO₃ source was connected to reactor tubing, and SO₃ steam was sent into the quartz tube reactor using the argon style. The reaction was cooled by the predetermined time deed at predetermined temperature, and cooled the reactor under the argon style after that. And fibril was dried at 90 degrees C by the 5"Hg vacuum, and dry weight gain was acquired. The sulfonic-acid (-SO₃H) content was calculated with the back titration by 0.100-N HCl which uses pH6.0 as a reaction and a terminal point with 0.100-N NaOH.

The liquid phase reaction was performed in the concentrated sulfuric acid which contains SO₃ 20% in 100 cc many ROFURASUKO equipped with a thermometer / temperature controller, and a magnetic agitator.

Concentrated sulfuric acid (50)

The fibril slurry in ** was put into the flask. Before adding an oleum solution (20 cc) to a reactor, it heated beforehand at about 60 degrees C. It poured after the reaction on the ice which broke the acid slurry, and diluted with 1l. deionized water immediately. It washed completely by deionized water until it will filter a solid-state and pH of washing effluent liquor would not change. Fibril was dried at 100 degrees C by the 5"Hg vacuum. The increment in weight strict because of loss by moving by filtration was not observed. Results are enumerated in Table 1.

table 1 [] the conclusion of a reaction

実施例	実験 #	反応	試料 重量 wt. g	ファイブリ のタイプ	T° C	時間	乾燥 増加	SO ₃ H濃度 meq/g
1A	118-60A	気相	0.20	CY	110	15 m	9.3%	0.50
1B	118-61A	気相	0.20	BN	100	30 m	8.5%	0.31
1C	118-61B	気相	0.20	BN	65	15 m	4.2%	0.45
1D	118-56A	液相	1.2	CY	50	10 m		0.33
1E	118-56B	液相	1.0	CY	25	20 m		0.40

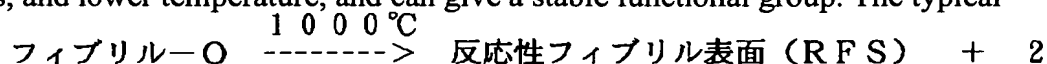
There was no significant difference in the sulfonic-acid content by the reaction in a vapor phase or the liquid phase. There was a temperature effect. The reaction (vapor phase) of higher temperature gives the sulfone of a higher amount.

In 118-61B, 4.2% of increment in weight was in agreement with the sulfonic-acid content (the theoretical values were 0.51 meq/g). It had the increment in weight which is too high for explaining that Experiments 60A and

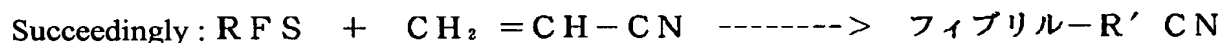
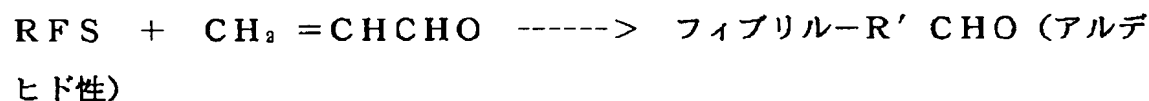
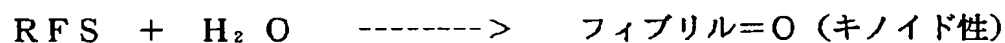
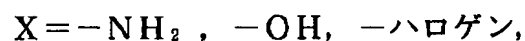
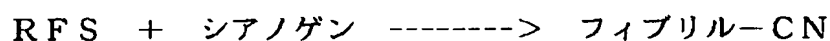
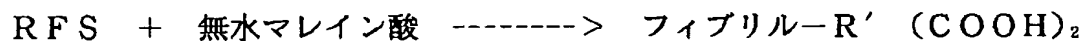
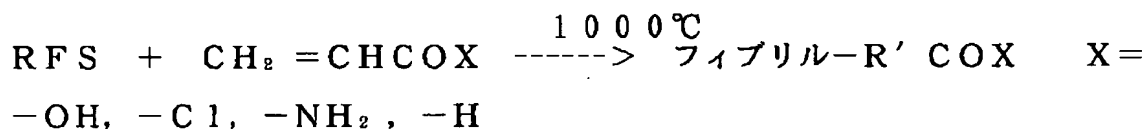
61A are only according to a sulfonic-acid content. Therefore, it was presumed that most quantity of the sulfone was also manufactured.

2. Addition on fibril front face which does not contain oxide A background technique is :Urry, G., Elementary Equilibrium Chemistry of Carbon, Wiley, and New York 1989 which are indicated by the following reference. Behavior of the surface carbon in fibril is carried out like graphite, namely, they are arranged by the condition of the hexagonal sheet (hexagonal sheet) containing the carbon of both a basic surface and an edge. Although basic surface carbon is inactive comparatively at a chemical attack, edge carbon is reactivity, and in order to fill a carbon valence, it must contain a hetero atom or a radical of a certain kind. Fibril also has the surface-discontinuity site which is edge carbon fundamentally and contains a hetero atom or a radical.

: whose most ordinary hetero atom combined with the surface carbon of fibril is as follows -- cause; and H₂O, and it always exist because of a catalyst. [that it is very difficult to avoid hydrogen, the main gas component; oxygen under manufacture, its reactant high cause and its trace] Although the pyrolysis in about 1000 degrees C in the inside of a vacuum has a strange mechanism, it will deoxygenate the front face at the complicated reaction which the amount of stoichiometries understands. A product is CO and CO₂ of 2:1 ratios. The fibril front face obtained contains the radical in C1-C4 array, and these radicals are very reactivity to the activated olefin. Although a front face is among a vacuum or is stable under existence of inert gas, the high reactivity is maintained until it is put to a reactant gas. Therefore, fibril is among a vacuum, or can react with a suitable molecule at that a pyrolysis is carried out at about 1000 degrees C under an inert atmosphere, being cooled under these same conditions, and lower temperature, and can give a stable functional group. The typical



example is as follows. : CO + CO₂



However, R' is hydrocarbon groups (alkyl, cycloalkyl, etc.).

Example 2 It is based on the reaction of an acrylic acid and a deoxidization object fibril front face. Manufacture of the organic-functions-ized fibril 1g BN fibril in a porcelain boat was put in in level 1" quartz tube equipped with a thermocouple, and was placed into the Lindbergh ****. The edge was equipped with gas input / tap hole. After purging tubing for 10 minutes with a desiccation deoxidation argon, the temperature of a furnace was maintained at 300 degrees C for ***** 30 minutes. after that -- the bottom of the continuous flow of an argon - - temperature -- 100-degree-C increment -- up to 1000 degrees C -- **** -- and it maintained for 16 hours. After that, tubing was cooled to the room temperature (RT) under the argon style. And it passed along the multi-opening flask which diverted the flow of an argon, contained the 50-degree C pure purification acrylic acid, and equipped with gas input / tap hole. The flow of an acrylic acid / argon steam was continued by RT for 6 hours.

After that, the 100-degree C vacuum drying performed removal of the unreacted acrylic acid which remained in the <5" vacuum from it by the purge by the argon first. The carboxylic-acid content was measured by carrying out a back titration by 0.100-N HCl to a reaction with 0.100-N superfluous NaOH, and the terminal point of pH7.5.

Example 3 It is based on the reaction of an acrylic acid and a deoxidization object fibril front face. Manufacture of the organic-functions-sized fibril The procedure was repeated like the above-mentioned procedure except having performed a pyrolysis and cooling in the 10 to 4-torr vacuum. The purification Al Lil acid steam was diluted with the argon as in the above-mentioned procedure.

Example 4 It is based on the reaction of a maleic acid and a deoxidization object fibril front face. Manufacture of the organic-functions-sized fibril A procedure is the maleic anhydride (MAN) which the reagent in RT refined, and when it let an argon gas pass to a 80-degree C melting MAN bath, it was repeated like the example 2 except the reactor having been supplied.

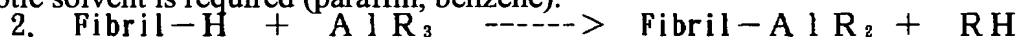
Example 5 It is based on the reaction of chlorination acryloyl and a deoxidization object fibril front face. Manufacture of the organic-functions-sized fibril A procedure is the chlorination acryloyl which the reagent in RT refined, and when it let an argon gas pass on 25-degree C pure chlorination acryloyl, it was repeated like the example 2 except the reactor having been supplied. The content of an acid chloride was measured with the back titration by the reaction with 0.100-N superfluous NaOH, and 0.100-N HCl.

The pyrolysis of the fibril in the inside of a vacuum deoxygenated the fibril front face. With TGA equipment, the pyrolysis in 1000 degrees C in the inside of a vacuum or a purification Ar style did 3% of average weight loss about three samples of BN fibril. Gas-chromatograph analysis detected only CO and CO₂ of about 2:1 ratio, respectively. The obtained front face is very reactivity, and, as for an activation olefin, for example, an acrylic acid, chlorination acryloyl, acrylamide, an acrolein, a maleic anhydride, allylamine, allyl alcohol, or allyl halide, even the room temperature will generate the pure product only containing the functional group which it reacted and was combined with the activation olefin. Therefore, the front face where the front face where the front face where the front face where the front face only containing a carboxylic acid is available by the reaction with an acrylic acid or an anhydrous mallein, and contains only; acid chloride contains only; aldehyde by the reaction with chlorination acryloyl contains only; hydroxyl from an acrolein contains only; amine from allyl alcohol contains only; and halide from allylamine is available from allyl halide.

3. Meta-rhe SHON A background technique is :March, Advanced Organic Chemistry and 3rd ed. which are indicated by the following reference, and p545.

With various organic metal reagents, the meta-rate of the aromatic series C-H coupling is carried out, and it can generate carbon-metallic bond (C-M). M can also usually use; which is Li, Be, Mg, aluminum, or Tl, however other metals. The easiest reaction is based on the direct permutation of the hydrogen in the activated aromatic series. :1. Fibril (フィブリル) -H + R - Li -----> Fibril - Li + R H

A reaction may need a strong base, for example, potassium t-butoxide, or the diamine for chelation further. The aprotic solvent is required (paraffin, benzene).



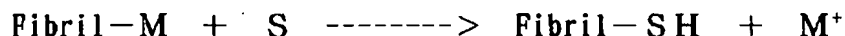
HTFA

TFA is trifluoroacetate. HTFA is trifluoroacetic acid.

A meta-rate derivative is the example of the fibril by which the first was formed into independent organic functions. However, the fibril by which they were made to react further and the first [another] was formed into independent organic functions can be given. Some reactions can carry out sequential operation with the same equipment, without isolating intermediate field.



Li, Al

 H^+ 

ハロゲン

触媒

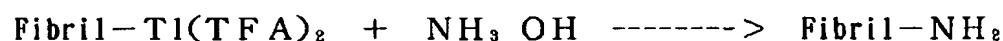
+ MOCH_3

エーテル

触媒



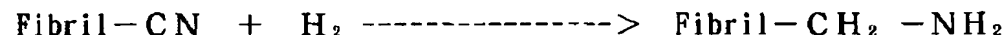
触媒



+ HTFA



+ TlTFA + KTFA



Example 6 Fibril - Manufacture of Li 1g CC fibril was put into the porcelain boat, and it inserted into 1" quartz tube reactor shut up in RINDO bark ****. The edge of tubing was equipped with gas input / tap hole. Under the continuous flow of H₂, fibril was heated at 700 degrees C for 2 hours, and the oxygenation object of all front faces was converted into C-H coupling. And the reactor was cooled to RT under H₂ style.

The hydrogenated fibril was moved to the 1l. multi-opening round bottom flask with the deoxygenated desiccation heptane (Li aluminum H₄). This flask was equipped with the purge system, the condensator, the magnetic agitator, and rubber diaphragm (a liquid can be added by Schilling through it) of a purification argon for removing all air and maintaining to an inert atmosphere. Under the argon ambient atmosphere, 2% solution containing the butyl lithium of 5 millimols was added by the syringe into the heptane, and this slurry was stirred under moderate reflux for 4 hours. after that, fibril was divided into gravity filtration 4s times in the argon ambient atmosphere glove compartment, and the deoxygenation desiccation heptane washed several times on the filter. Fibril was moved to 50 cc round bottom flask with a stopper cock, and it dried at 50 degrees C under 10 -4torr vacuum. The lithium content was measured by making the sample of fibril react with 0.100-N superfluous HCl in DI water (deionized water), and carrying out a back titration to the terminal point of pH5.0 by 0.100-N NaOH.

Example 7 Manufacture of fibril-Tl (TFA)₂ It loaded with HTFA in which hydrogenates 1g CC fibril like an example 5, and gas drainage is carried out in the multi-opening flask by the repeat purge by the desiccation argon. 5% solution of the 5 millimol (TFA) Tl 2 in HTFA was added to the flask from the rubber diaphragm, and this slurry was stirred under moderate reflux for 6 hours. After the reaction, fibrils were collected like

Example 1 and it dried.

Example 8 Fibril - Manufacture of OH (oxygenation derivative only containing OH organic-functions-ization) 0.5g of the lithiation fibril manufactured in the example 6 was moved to a 50 cc mouthful flask which attached the stopper cock and the magnetic rabble in the argon ambient atmosphere globe bag with the deoxygenation desiccation heptane. The flask was taken out from the globe back and carried out magnetic agitator *****. And the stopper cock was opened to atmospheric air, and the slurry was stirred for 24 hours. After that, filtration separated fibril, the MeOH water solution washed, and it dried at 50 degrees C by 5" vacuum. It asked for the concentration of an OH radical by making it react at the standardization solution (0.252M) of the acetic anhydride in dioxane, and 80 degrees C, and converting an OH radical into acetic ester. In such a case, the 1Eq [per one mol of acid anhydrides] acetic acid which reacted is emitted. It measured by titrating to the terminal point of pH7.5 by NaOH of the whole acid content, an isolation acetic acid, an unreacted acetic anhydride, and 0.100 Ns of **.

Example 9 Fibril - Manufacture of NH₂ 1g thallium-ized fibril was manufactured like an example 7. Fibril was slurried in dioxane and 0.5g triphenyl phosphine dissolved in dioxane was added. After stirring a slurry several minutes at 50 degrees C, the 50-degree C ammonia gas was added for 30 minutes. And filtration separated fibril, and it is among dioxane, washed by DI underwater, and dried at 80 degrees C by 5" vacuum. Amine concentration was measured by making it react with a superfluous acetic anhydride, and carrying out the back titration of an isolation acetic acid and the unreacted acetic anhydride by 0.100-N NaOH.

4. Compound of induction-ized polykaryotic aromatic series, poly hetero nucleus aromatic series, and flat-surface large ring type The front face of the graphite of fibril enables physical adsorption of an aromatic compound.

Suction is based on Van der Waals force. This force exists considerably between a polycyclic hetero nucleus aromatic compound and the basal plane carbon on the front face of graphite. Desorption is under the condition in which contention surface adsorption is possible, or will happen under the conditions on which an adsorbate has high solubility.

For example, fibril can be organic-functions-ized by adsorption of a phthalocyanine derivative. And these phthalocyanines derivative fibril can be used as a proteinic solid-state base material. It is possible to introduce a different chemical group into a fibril front face by choosing the derivative with which phthalocyanines only differ.

Since protein is fixed, using phthalocyanine derivative fibril has an advantage more significant than the conventional protein fixed approach. Especially it is easier than covalent modification. In addition, phthalocyanine derivative fibril has high surface area, and is stable also in which kind of solvent covering wide range temperature and pH.

Example 10 Pori Phi Lynne to a fibril top, and adsorption of a phthalocyanine A compound desirable although physisorbed on fibril is Pori Phi Lynne or the phthalocyanine by which adsorbing to graphite or carbon black strongly is known and which was induction-ized. Some compounds are available, for example, they are tetracarboxylic acid Pori Phi Lynne, a cobalt (II) phthalocyanine, or a NIRICHIUMU phthalocyanine. Two of the latters can be induction-ized by the carboxylic-acid gestalt.

2 lithium phthalocyanine Generally two Li⁺ ion is expelled from a phthalocyanine (Pc) radical with most metal (especially multiple valued) complexes. Therefore, the permutation of Li⁺ ion by the metal ion combined with the ligand which is not unstable is the approach of placing a stable functional group on a fibril front face.

Almost all transition metal complexes will expel Pc to Li⁺, and will generate the stable chelate of non-instability. And the main point is combining this metal with the ligand for which are suitable.

Cobalt (II) phthalocyanine For especially this reason, a cobalt (II) complex is suitable. Co⁺⁺ ion can be permuted instead of two Li⁺ ion. And Co⁺⁺ ion can be configured in a ligand like the nicotinic acid containing the pyridine ring which has a suspension (pendant) carboxylic-acid radical, and combining it with the priority to a pyridine radical is known. Under existence of a superfluous nicotinic acid, Co(II) Pc can oxidize electrochemically, can turn into Co(III) Pc, and forms the pyridine component of a nicotinic acid, and the complex which is not unstable. Therefore, the isolation carboxylic-acid radical of a nicotinic-acid ligand is firmly combined with the fibril front face.

the ligand for which others are suitable -- aminopyridine or ethylenediamine (suspension NH₂), a mercapto pyridine (SH), or one edge -- amino - or a pyridyl-component -- either -- and it is the polyfunctional ligand of

others which contain a certain desirable function in the other end.

A porphyrin or loading capacity of a phthalocyanine (loading capacity) can be measured by decolorization of the solution when carrying out gradual increase addition of them.) The deep color of a solution (blue dark in Co (II) or the NIRICHU phthalocyanine in pink deep in the tetracarboxylic acid porphyrin in MeOH, an acetone, or a pyridine - green)

It changes, when ** and a molecule are removed by adsorption on the black front face of fibril.

Loading capacity was presumed by this approach, and the footprint of a derivative was computed from that approximation measurement (about 140 square angstrom). On an average, the surface area of fibril is 250m²/g, and the maximum loading is about 0.3 millimols /g.

Titration analyzed the tetracarboxylic acid porphyrin. The integrity of adsorption was examined by color emission by the ambient temperature and hot aqueous system.

A fibril slurry is mixed first (WARINGU blender (Waring blender)).

It carried out and stirred throughout loading. It was ineffective, although a part of slurry was ultrasonicated after a color would not change any longer.

After loading, experiment 169-11-12, -14, and -19-1 (refer to table II) were washed in the same solvent, and removed the occlusion pigment. Since all continued into washing effluent and the weak color was shown, it was difficult to ask for the saturation point correctly. Experiment 168-18 and -19-2 used the pigment of the amount calculated for loading, and washed it very lightly after loading.

In order that a tetracarboxylic acid porphyrin (from an acetone) and Co phthalocyanine might indicate by the description further (from a pyridine), loading was carried out on fibril (respectively experiment 169-18 and -19-2).

Analysis of a tetracarboxylic acid porphyrin Addition (pH 11-12) of an excess base made the slurry to titrate produce pink coloring immediately. Although this did not block titration, it showed that desorption of the porphyrin was carried out by high pH. Carboxylic-acid concentration was measured with the back titration of superfluous NaOH which uses pH7.5 as a terminal point. Titration gave loading of 1.10meq(s) per 1g of acids, and it was equal to 0.275meq(s) per porphyrin 1g.

Analysis of cobalt or a 2 lithium phthalocyanine The concentration of these adsorbates was presumed only from the decolorization experiment. Blue - The point when a green color does not fade after 30 minutes was made into the saturation point. The fibril front face was adsorbed in the compound of much the permuted polykaryotic aromatic series or the poly hetero nucleus aromatic series. For adhesion force, the two number per a ring / suspension functional group of aromatic series rings should be made [many]. Therefore, the polyfunctional derivative containing the four or more condensed rings, such as a permutation anthracene, a phenanthrene, etc. containing the three condensed rings, can be used instead of a porphyrin or a phthalocyanine derivative. The many permuted hetero aromatic compound which similarly contains the permuted aromatic series heterocyclic compound, for example, a quinoline, or four rings or more can be used.

The result of the loading experiment about three kinds of a porphyrin / phthalocyanine derivatives is summarized in Table II.

Table II Conclusion of an adsorption experiment

実施例	実験 #	吸着質	重量(g)	溶媒	ローディング		滴 定
					g/g	形 態	
10A	169-11	TCAPorph	19.6mg	Acet	0.18g/g	酸	na
10B	169-12	TCAPorph	33.3mg	H ₂ O	0.11	Na塩	na
10C	169-14	DiLiPhth	119.0mg	Acet	0.170	Li	na
10D	169-19-1	CoPhth	250.0mg	Pyr	0.187	Co	0.335(cal)
10E	169-18	TCAPorph	1.00g	Acet	0.205	酸	1.10(T)
10F	169-19-2	CoPhth	1.40g	Pyr	0.172	Co	0.303(cal)

TCAPorph is a tetracarboxylic acid porphyrin.
(cal) is calculated value.

DiLiPhth is a NIRICHIUMU phthalocyanine.

CoPhth is a cobalt (II) phthalocyanine.

(T) is titration.

The following examples 11 and 12 explain how to make two kinds of different phthalocyanine derivatives adsorb on a carbon nanotube.

Example 11 Adsorption of a nickel (II) phthalocyanine tetra-sulfonic acid Organic-functions-sized fibril It is a 4.2mg plane in 1ml dH₂O about a 2mg nickel (II) phthalocyanine tetra-sulfonic acid (4 sodium salt). It mixed with fibril.

This mixture was processed ultrasonically for 30 minutes, and it was made to rotate at a room temperature overnight.

1ml MeOH washed fibril 3 times 3 times by 1-ml dH₂O at CH₂Cl₂ (3 times and 1 ml)², and it dried under the vacuum.

Thermolysin was fixed by adsorption in such phthalocyanine derivative fibrils. 0.5mg fibril was made to suspend in dH₂O of 250 microliter, and it processed ultrasonically for 20 minutes. It mixed with 250 microliter of the thermolysin (thermolysin) solution of 0.6mM(s) which threw away the supernatant, was made to suspend fibril in the tris (Tris) of 0.05M of 250 microliter (pH=8.0), and was built in the same buffer solution. This mixture was rotated at the room temperature for 2 hours, and it stored at 4 degrees C overnight. And fibril was washed 3 times by the 1ml tris (pH=8) of 25mM(s), and it was made to suspend in 250 microliter of the buffer solution of pH7.5 containing CaCl₂ of the tris of 40mM(s), and 10mM(s).

The amount of the thermolysin on these fibrils was calculated by measuring the enzyme activity of fibril.

Thermolysin generates the compound which causes the absorbance fall which can react with Substrate FAGLA (N -(3-[2-furil] acrylonitrile)- glee ROIAMIDO), and has the absorbancy index of -310M-1cm-1 by 345nm. The assay buffer conditions for this reaction were NaCl(s) of the tris of 40mM of pH7.5, and CaCl₂ 2 and 1.75M of 10mM. In a 1ml shallow pot, a reaction is the thermolysin of 10microg in the 1ml assay buffer solution about the FAGLA stock solution (25.5mM(s) in 30%DMF in dH₂O) of five microliter. It carried out by mixing with fibril. It acted as the monitor of the absorbance fall in 345nm by the time amount scan over for 10 minutes. And enzyme activity (a part for muM/) was computed from initial inclination using the absorbancy index of -310M-1cm-1. The amount of the activity thermolysin per fibril 1g was 0.61micro mol.

example 12 1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, and 25-octabutoxy Adsorption of a -29H and 31H-phthalocyanine Organic-functions-sized fibril the inside of 1ml CHCl₃ -- a 3mg 1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25-octabutoxy-29H, and 31H-phthalocyanine and 5.3mg plane Fibril was mixed. This mixture was processed ultrasonically for 50 minutes, and it was made to rotate at a room temperature overnight.

Fibril was washed 3 times by 1ml CH₂Cl₂, and it dried under the vacuum.

Thermolysin was fixed by adsorption according to the approach of an example 34 on these phthalocyanines derivative fibril. The amount of the activity thermolysin per fibril 1g was 0.7micro mol.

Example 13 Thermolysin is fixed on it. Phthalocyanine derivative fibril is used. Composition of an ASUPARU term precursor The phthalocyanine derivative fibril by which thermolysin is fixed on it can be used in order to carry out the catalyst of the composition of the precursor of an artificial sweetener ASUPARU term. The reaction was performed by mixing L-Z-Asp of 80mM(s), and L-PheoMe of 220mM(s) in the ethyl acetate which has the fibril fixed thermolysin of 10microM. A product and Z-Asp-PheoMe were supervised by HPLC, in order to measure yield.

5. Oxidation by Chlorate or Nitric Acid As Reference about Potassium Chlorate in Concentrated Sulfuric Acid, and Oxidation of Graphite by Strong Oxidizer like Nitric Acid To :R.N.Smith to which the following are mentioned, Quarterly Review 13,287(1959);M.J.D.Low, and Chem.Rev.60,267(1960) o-** Edge carbon (a defective site is also included) gives the mixture of a radical by which it was attacked and a carboxylic acid, a phenol, and others were oxygenated. A mechanism is a complicated thing including radical reaction.

Example 14 A chlorate is used. Manufacture of the fibril organic-functions-sized with the carboxylic acid It slurred by mixing the sample of CC fibril with a knife into concentrated sulfuric acid, and equipped with gas input / tap hole, and the overhead location agitator, and moved to the reaction flask. Loading of NaClO₃ was

performed in several steps under the argon style carried out slowly by RT into the time amount of an experiment, stirring. Since the chlorine steam occurred in all the processes of an experiment, the sweep of the chlorine steam was carried out from the reactor, and it sent into the NaOH water-solution trap.

At the last of an experiment, filtration under reduced pressure of the fibril slurry was poured out and carried out on the broken ice.

And the filter cake was moved to the Soxhlet extraction thimble, and DI water washed with the Soxhlet extractor, and it exchanged for fresh water every several hours. Washing was continued until the sample of fibril stopped having changed pH of water, when fresh DI water was added.

And filtration separated fibril and it dried at 100 degrees C by 5" vacuum overnight.

The carboxylic-acid content was measured by making a sample react with 0.100-N superfluous NaOH by carrying out a back titration to the terminal point of pH7.5 by 0.100-N HCl. Results were enumerated to the table.

Table III Conclusion of a direct oxidation experiment

Rec 酸,		成分, g						
Bx.	RUN #	フィブリル	NaClO ₃	cc	H ₂ SO ₄	時間(h)	洗浄 pH	重量
meq/g								
11A	168-30	10.0	8.68	450	24	5.7		
10.0	0.78							
11B	168-36	12.0	13.9	600	24	5.9		
13.7	0.75							

Example 15 A nitric acid is used. Manufacture of the fibril organic-functions-ized with the carboxylic acid The sample in which fibril carried out weighing capacity was slurred with the nitric acid of suitable strength in the reaction flask equipped with an overhead location agitator and a water condenser circular and with the impression of many openings. Stirring continuously, temperature was adjusted and it carried out the time which had the reaction specified.

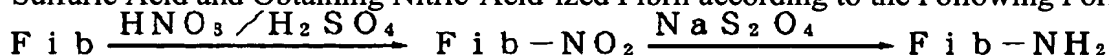
Regardless of the reinforcement of an acid, after temperature exceeded 70 degrees C, brown smoke separated between short time. The slurry was poured out on the broken ice after the reaction, and it diluted with DI water. The slurry was filtered, and it carried out until the sample slurred [replacing a reservoir with fresh DI water every several hours and] although removed by washing a superfluous acid with a Soxhlet extractor would not give change to Ph from DI water. Fibril was dried at 100 degrees C by 5" vacuum overnight. A part of weighing capacity of fibril was made to react with 0.100-N standard NaOH, and the carboxylic-acid content was measured with the back titration by 0.100-N HCl. The surface oxygen content was measured by XPS. It sets to 0.1% of the weight, and the dispersibility to water is WARINGU. It examined by mixing in a blender for a maximum of 2 minutes. The result was summarized in Table 4.

Table IV Conclusion of a direct oxidation experiment

分散性	成分		COOH	ESCA, at%	at%				
	g	cc							
Bx.	フィブリル	酸	酸濃度	温度℃	時間	重量損失	meq/g	C	O
<u>H₂O</u>									
12A	1(BN)	300	70%	室温	24 hr	0	<0.1	98	2
P									
12B	1(BN)	300	15	還流	48	<5%	<0.1	分析せず	
P									
12C	20(BN)	1.0	1	70	還流	7	25%	0.8	分析せず
G									
12D	48(BN)	1.0	1	70	還流	7	20%	0.9	分析せず
G									

P=悪い G=良い

6. Formation of Amino Organic Functions of Fibril It is Possible to Introduce Amino Group into Graphite Nature Fibril Directly by Obtaining Fibril Formed into Amino Organic Functions by Returning this Nitric-Acid-Ized Gestalt with a Reducing Agent like Sodium Dithionate, after Processing Fibril with Nitric Acid and Sulfuric Acid and Obtaining Nitric-Acid-ized Fibril according to the Following Formula. :



The obtained fibril has proteinic (for example, an enzyme and an antibody) immobilization and the usefulness of a large number which include an affinity and ion exchange chromatography.

Example 16 A nitric acid is used. Manufacture of the fibril formed into amino organic functions The nitric acid (0.4ml) was dropped to the cooling suspended solid (0 degree C) of the fibril (70mg) in water (1.6ml) and an acetic acid (0.8ml). This reaction mixture was stirred at 0 degree C for 15 minutes, and it stirred at the room temperature for further 1 hour. The mixture of a sulfuric acid (0.4ml) and a chloric acid (0.4m) was added slowly, and it stirred at the room temperature for 1 hour. Centrifugal separation of the reaction was suspended and carried out. The aquosity layer was removed and fibril was washed with water (x5). The residue was processed by the sodium hydroxide 10% (x3), and it washed with water (x5), and nitric-acid-ized fibril was completed.

Sodium dithionate (200mg) was added to the suspended solid of the nitric-acid-ized fibril in water (3ml) and ammonium hydroxide (2ml) in 3 steps at 0 degree C. This reaction mixture was stirred at the room temperature for 5 minutes, and it stirred at 100 degrees C for 1 hour. The reaction was suspended, and it cooled at 0 degree C, and pH was adjusted with the acetic acid (pH4). After leaving it at a room temperature overnight, the suspended solid was filtered, the vacuum drying was washed and carried out with water (x10) and a methanol (x5), and amino fibril was given.

In order to examine this fibril formed into amino organic functions, coupling of the horseradish (horseradish) peroxidase was carried out to fibril. And the amino fibril by which coupling was carried out in this HRP was dialyzed on a large scale. After dialysis, fibril was washed 15 times during the next week. The fibril embellished with this enzyme was authorized as follows. :



It means that the result showed the good enzyme activity with which HRP combined with Fib-NH₂ is held over one week.

7. Association of end alcohol which uses radical initiator While the advanced stability of a carbon nanotube makes it possible to use it by the harsh environment, it makes it difficult to be activated for the further qualification. The conventional approach was accompanied by use of a severe oxidizer and an acid. It became clear that end alcohol was combinable with a carbon nanotube at a surprising thing using a radical initiator like a benzoyl peroxide (BPO). Formula RCH₂OH (the inside of a formula and R are hydrogen, alkyl, aryl, cycloalkyl, an aralkyl, cyclo aryl, or Pori (alkyl ether)) A carbon nanotube is added to the alcohol which it has with a radical initiator, and it heats at about 60 degrees C - about 90 degrees C. Ethanol and a methanol are included by desirable alcohol. When sufficient time amount for all of radical initiators to decompose passes, by filtering a reaction mixture, a carbon nanotube ingredient is washed and it dries, and it is a formula. The nanotube with which nanotube-CH(R) OH was embellished is produced. This approach can be used also for combining bifunctional alcohol. This makes it possible to be used for an end's connecting with a carbon nanotube and the other end connecting another ingredient with a front face indirectly.

Example 17 A benzoyl peroxide is used. Manufacture of the organic-functions[alcoholic]-ized nanotube The 0.277g carbon nanotube was distributed in MeOH using the probe ultrasonic device. 0.126g BPO was added at the room temperature, temperature was raised to 60 degrees C, and 0.128g additional BPO was added. 60 degrees C -- after 45 more minutes -- 0.129g last BPO addition -- carrying out -- and mixture -- 60 degrees C -- further -- it maintained for 30 minutes. The product was filtered on the film, and it washed several times by MeOH and EtOH, and dried in 90-degree C oven. Yield was 0.285g. ESCA analysis showed the oxygen content of 2.5 atom %, and was 0.74 atoms % by the contrast sample which flowed back without BPO in MeOH compared with this.

Example 18 A benzoyl peroxide is used. Qualification of the carbon nanotube by Pori (ethylene glycol) 10g Pori (ethylene glycol) (average molecular weight 1000) (PEG-1000) was mixed with a 0.1g carbon nanotube and 0.5g BPO at the room temperature. This mixture was heated at 90 degrees C, and PEG was fused, and in order to make it react at 90 degrees C, it placed overnight. The whole mixture was filtered and washed, and Excess PEG was removed, and it dried. Being embellished further is also possible by combining the ingredient which can also use the obtained ingredient as it is, or is interested in the free end of PEG.

Example 19 Carbon nanotube embellished with PEG Application for reducing un-unique association Un-unique association to the carbon ingredient of high surface area is everywhere. When hydrophilic oligomer like PEG was combined with the carbon nanotube, it became clear that un-unique association could be reduced. Moreover, by combining the end of a chain molecule like PEG on the surface of a nanotube, the free end could contain the functional group which can be used for association of other interested ingredients, and in order to reduce un-unique association and yet, what the property of a PEG (or other ingredients) layer is maintained in addition also for became clear.

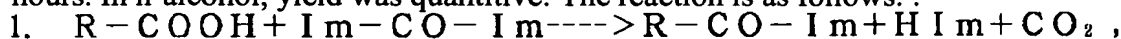
Fall of un-unique association of the bovine serum albumin by PEG qualification fibril By distributing each 1.0mg by sonication in the 10ml buffer solution, the 0.1mg [/ml] stock distribution object in the potassium phosphate buffer solution of 50mM(s) of pH7.0 of non-embellished fibril, chlorate oxidization fibril, and PEG qualification fibril was manufactured. 2ml of each two-fold-serial-dilution objects of a series of was put into each of nine polypropylene tubing. 100microl of the 0.2mg [/ml] solution of the bovine serum albumin (BSA) in the same buffer solution was added to each tubing and three buffer-solution blanks. Tubing of the three buffer solutions which do not contain protein was also built. It incubated for 30 minutes, having mixed every tubing with the vortex mixer, and carrying out a vortex for 30 seconds every 10 minutes. Fibril was separated, having covered all tubing over the centrifuge, the 1ml aliquot of a supernatant was moved to new tubing, and it analyzed about the total protein content using micro (Micro) BCA protein assay (pierced earring (Pierce)). The level of the protein which remains into the supernatant was indirect measurement of the amount combined with fibril at non-****. Although all BSAs remained into the supernatant in PEG qualification fibril, it combined with un-embellishing or chlorate oxidization fibril nearly completely (refer to drawing 1).

Comparison of the fall of un-unique association by the PEG qualification fibril manufactured using the benzoyl peroxide, and a fall of un-unique association by NHS ester coupling Fibril which oxidized with the chlorate,

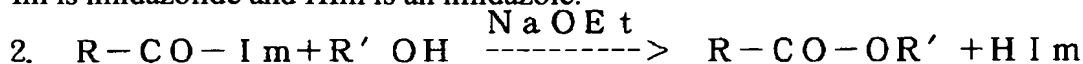
The fibril embellished by PEG using the benzoyl peroxide, And the stock distribution object of the chlorate oxidization fibril embellished with PEG by NHS ester coupling was manufactured by sonication by ml in 1.0mg /in the potassium phosphate buffer solution of pH7.0 and 50mM. Each 2ml of a series of of 3 time dilution was put into each of seven polypropylene tubing. 100microl of the 0.2mg [/ml] solution of the beta lactoglobulin in the same buffer solution (betaLG) was added to each tubing and three buffer-solution blanks. Tubing of the three buffer solutions which do not contain protein was also built. It incubated for 60 minutes, having mixed every tubing with the vortex mixer, and carrying out a vortex for 30 seconds every 10 minutes. Fibril was separated, having covered all tubing over the centrifuge, the 1ml aliquot of a supernatant was moved to new tubing, and it analyzed about the total protein content using micro BCA protein assay (pierced earring). The level of the protein which remains into the supernatant was indirect measurement of the amount combined with protein at non-**** (refer to drawing 2). About each of tubing, betaLG remains into the supernatant of the fibril embellished by PEG through the root of NHS ester, and it meant that there was no un-unique association. In the level of the 1.0mg [/ml] highest fibril, whether it is small showed [of betaLG] (about 10%) of association, and the fibril embellished by PEG through the BPO root did not show significant association on lower level. By contrast, to the fibril which oxidized with the chlorate, it joined together nearly completely on the level of 0.1mg/ml or more, and substantial association was seen to 0.01mg/ml of these fibrils.

8. Nanotube organic-functions-ized with second-grade induction object carboxylic acid of organic-functions-ized nanotube The number of the second-grade induction objects which can be manufactured from a carboxylic acid is essentially infinite. Alcohol or an amine gives the ester or the amide which connects with an acid easily and is suitable for it. When alcohol or an amine is some of G or two functionality, and polyfunctional molecules, the connection which lets O- or NH- pass emits other functional groups as a suspension radical. : whose typical example of a secondary reagent is as follows -- general formula A suspension radical An example HO-R and R Alkyl, R- A methanol, a phenol, an aralkyl, aryl, Trifluoro carbon, fluoro ethanol, OH end polyester, a polymer, SiR³ Silanol H₂ N-R R- An amine, Ali Nin, and R as the above [same] A fluorination amine, silylamine, an amine End POTAAMIDO, protein Cl-SiR³ SiR³- Cyclo silane HO-R-OH HO- Ethylene glycol, and PEG and R Alkyl, A pentaerythritol, an aralkyl, CH₂O- Bisphenol AH₂ N-R-NH₂ H₂-N-Ethylenediamine and R Alkyl, an aralkyl Polyethylene amine X-R-Y and R are alkyl etc.; Y- A polyamine amide and X OH or NH₂; The mercaptoethanol Y is SH, CNNC=O, CHO, an alkene, an alkyne, aromatic series, and heterocycle. A reaction can be performed using either of the approaches developed in order to esterify or aminate a carboxylic acid by alcohol or the amine. Also in these, use an N and N'-carbonyl JIIMIDA SOL (CDI) as an acylating agent for ester or an amide. H. in order to activate the carboxylic acid for approach [of A. SUTAPPU] (H. A. Staab, Angew.Chem.Internat.Edit., (1) 351 (1962)), and amidation The approach (86 Anderson, et al., J.Amer.Chem.Soc., 1839 (1964)) of Anderson and others which uses N-BITOROKISHI succinimide (NHS) was used.

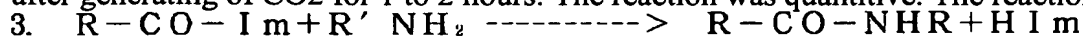
Example 20 The manufacture N of the second-grade induction object of the organic-functions-ized fibril, N'-carbonyldiimidazole The pure dry aprotic solvent (for example, toluene or dioxane) was required of this procedure. The amount of stoichiometries of a reagent was enough. The carboxylic-acid compound was made to react for 2 hours at the amount of stoichiometries and room temperature of CDI which were dissolved in toluene in toluene in the inert atmosphere (argon) for ester. CO₂ occurred in this time amount. 2 hours after, alcohol was added with Na ethoxide of the amount of catalysts, and the reaction was continued at 80 degrees C for 4 hours. In n-alcohol, yield was quantitative. The reaction is as follows. :



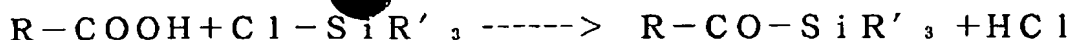
Im is imidazolidine and HI m is an imidazole.



It happens that the catalyst of the amidation of an amine is not carried out in RT. The first process in this procedure is the same. The amine of the amount of stoichiometries was added by RT, and it was made to react after generating of CO₂ for 1 to 2 hours. The reaction was quantitative. The reaction is as follows. :



Silanizing Trialkyl silyl chloride or a trialkyl silanol reacts immediately with active hydrogen as follows. :



A small amount of diaza as a catalyst - The 1, 1, and 1-bicyclo octane (DABCO) was used. Suitable solvents were dioxane and toluene.

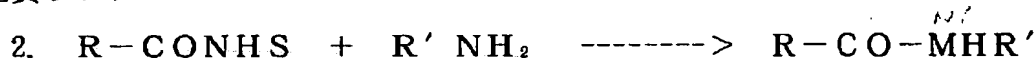
Fibril organic-functions-ized with the sulfonic acid An aryl sulfonic acid which was manufactured in the example 1 can react further, in order to generate a second-grade induction object. A sulfonic acid can be returned to a mercaptan with the combination of LiAlH₄ or triphenyl phosphine, and iodine (March, J.P., p.1107). Can convert into a sulfonate by the reaction with the dialkyl ether again, namely, it is as follows. :

$$Fibril-SO_3H + R-O-R \longrightarrow Fibril-SO_2OR + ROH$$

N-hydroxysuccinimide ; carbodiimide to which activation of the carboxylic acid for amidation by the primary amine takes place through N-hydroxy SUKUSHIN amyl ester is used in order to combine with the water emitted as permutation urea. And NHS ester is converted into an amide by RT by the reaction with a primary amine. The reaction is as follows. :



基質ウレア



This approach is the isolation NH on a proteinic side chain. It is effective in ****(ing) and especially carrying out covalent bond of the protein to graphite nature fibril. The example of protein fixable in fibril by this approach includes fricin, streptoavidin, and avidin. Streptoavidin (or avidin) fibril offers the solid support for the biotin-ized matter (biotinylated substance).

Example 21 It lets NHS ester pass for protein, and is covalent bond to fibril. In order to prove that protein can carry out covalent bond to fibril through NHS ester, streptoavidin, avidin, and a trypsin were combined with fibril as follows.

0.5mg NHS-ester The sodium phosphate buffer solution (pH7.1) of 5mM washed fibril, and the supernatant was thrown away. The streptoavidin solution (1.5mg in the same buffer solution) of 200microl was added to fibril, and mixture was rotated at the room temperature for 5.5 hours. And the sodium phosphate (pH7.1), PBS (the sodium phosphate of 0.1M, NaCl of 0.15M, pH7.4), the ORIGENTM assay buffer solution (IGEN, Inc., Gaithersburg, MD), and PBS of :5mM which washed fibril in order with the 1ml following buffer solution. Streptoavidin fibril was stored into the PBS buffer solution, in order to use it further.

2.25mg NHS-ester Fibril was ultrasonicated for 40 minutes in the sodium phosphate buffer solution of 5mM(s) of 500microl (pH7.1), and the supernatant was thrown away.

300microl of the avidin solution built in the same buffer solution which ultrasonicates fibril in the sodium phosphate buffer solution of 5mM(s) of 500microl (pH7.1), and contains 2mg avidin (a sigma, A-9390) was added. This mixture was rotated at the room temperature for 2 hours, and it stored at 40 degrees C overnight, and was made to rotate at a room temperature for further 1 hour. The 1ml sodium phosphate buffer solution (pH7.1) of 5mM(s) washed fibril twice with 4 times and the PBS buffer solution. Avidin In order to store fibril, it was made to suspend in the PBS buffer solution of 200microl.

Trypsin Fibril is 1.1mg NHS-ester. Fibril (in avidin fibril, it processed similarly) and 200microl of the trypsin solution of 1.06mM(s) built in the sodium phosphate buffer solution (pH7.1) of 5mM were mixed, and it was manufactured by making it rotate at a room temperature for 6.5 hours. And trypsin It is the 1ml sodium phosphate buffer solution (pH7.1) of 5mM(s) about fibril.

It came out, and washed 3 times, and suspended in the same buffer solution of 400microl for storage.

Example 22 Measurement of the enzyme activity of the trypsin on fibril The trypsin emitted the coloring compound which can react with substrate L-BAPNA (Na-benzoyl-L-arginine-para nitroaniline), and absorbs the light which is 410nm. The assay buffer solutions for this reaction were the tris of 0.05M, and CaCl₂ and pH8.2 of 0.02M. In a 1ml shallow pot, a reaction is the trypsin of 10-25microg in the L-BAPNA stock solution (50mM (s) in 37%DMSO in H₂O) of 5microl, and 1ml of assay buffer solutions. It carried out by mixing fibril. It acted as the monitor of the absorbance fall in 410nm for 10 minutes. And enzyme activity (a part for muM/) was computed from initial inclination.

Trypsin which carried out covalent bond About fibril, activity was a part for 5.24microM/per fibril of 13microg. This result is convertible for the amount of the activity trypsin on fibril by breaking the activity of the known concentration of the trypsin solution measured as it is a part for 46microM/per trypsin of 1microM by the bottom of assay conditions. Therefore, the amount of the activity trypsin per fibril 1g was 8.3micro mol (or 195mg).

Example 23 Carbon nanotube which has surface thiol Amino manufactured by qualification by ethylene JIAON as indicated by the example 27 (following) 0.112g of a carbon nanotube (CN) was made to suspend in 20ml of the sodium phosphate buffer solution of 0.05M of pH8.0 containing EDTA of 50mM. It is Branson (Branson) 450 W about this suspended solid. It ultrasonicated with the probe ultrasonic device for 5 minutes, and CN was distributed. The obtained suspended solid was completely viscosity. The argon was blown into the suspended solid for 30 minutes, stirring. It was made to react for 70 minutes, adding a 50mg 2-imino thio run hydrochloride, and carrying out continuation stirring of the mixture under an argon. The obtained ingredient was filtered with the polycarbonate millipore filter, the buffer solution washed twice, DI water washed twice by 1 time and anhydrous [EtOH], and the all were performed under the argon bracket. This CN by which thiol qualification was carried out was put in into the vacuum desiccator, and pumping was carried out overnight. The final mass was 0.118g and was 55% of invert ratio based on the increment in weight.

The 10mg sample of the thiol-ized nanotube was made to suspend in sonication in 10ml DI water, and it filtered by the 0.45-micrometer nylon film, and the felt-like mat was generated. After storing a mat part into a vacuum desiccator, ESCA analyzed, it showed 0.46% of buffer solution, and 1.69% of nitrogen, and the successful inversion to the thiol qualification CN was checked.

Example 24 The carbon nanotube by which thiol qualification was carried out is combined with a golden front face. Gold foil (alpha/ESARU (Alfa/Aesar)) 2cmx0.8cm was made into clarification for 10 minutes with the solution of the concentrated sulfuric acid of the 30% hydrogen peroxide and the three sections of the one section, and was washed by deionized water. Cyclic [connect the piece of a foil to a golden lead wire and] It is -0.35V in the sulfuric acid of 1M until a voltamogram will not change for about 10 minutes. From vs.Ag/AgCl to 1.45V It was made to circulate electrochemically before vs.Ag/AgCl. And it washed and dried by deionized water. The big piece was judged to four 0.5cmx0.8cm wafers.

About 10ml anhydrous [EtOH] deoxygenated by carrying out a barge for 30 minutes with an argon, it is ***** to each of two glass **. 10mg of the ethylenediamine qualification CN used in order to build a thiol derivative with one piece of Au was made to suspend in one ** in ** of the thiol qualification CN (CN/SH) of 16mg, two pieces of Au(s), and another side. All actuation was performed into Ar restoration globe bag. ** was sealed under Ar and put in into the cooled supersonic-wave bath for 1 hour. ***** was left in RT for 72 hours. Au sample was taken out from **, and by EtOH, it washed 3 times, and seasoned naturally, and put in into *****.

Au foil sample put to CN / ethylenediamine, and CN/SH was inspected with the scanning electron microscope (SEM), and the existence of CN on a front face was investigated. Although the inspection by 40,000x showed existence of CN distributed on the front face put to CN/SH, CN was not observed by Au foil sample put to CN/ethylenediamine.

Example 25 Maleimide fibril is manufactured from amino fibril. Amino fibril was manufactured according to the example 13. And amino fibril (62.2mg) was ultrasonicated in the sodium phosphate buffer solution (they are 5mM(s) at 5ml and pH7.2). Sulfo SUKUSHIMMIJIRU-4-(N-maleimide methyl) cyclohexane-1-carboxylate (SMCC;28.8mg, 0.66 millimol: a pierced earring, catalyst No.22360) was added to this fibril suspended solid. This reaction mixture was stirred at the room temperature overnight. Water and a methanol washed fibril and the vacuum drying of the product fibril was carried out. Antibody fixation-ization on this product checked existence of maleimide fibril. Other maleimide (for example, **, such as sulfo-SMCC and 4-[p-maleimide phenyl] butanoic acid succinimidyl [SMPB], sulfo-SMPB, m-maleimide benzyl-N-hydroxysuccinimide ester [MBS], and sulfo-MBS) fibrils which have a different linker can be manufactured through the same approach. Obtained maleimide Fibril can be used as a solid-state base material for covalent-bond immobilization of protein, for example, antibody, and enzyme **. The antibody was fixed by covalent bond on the fibril activated by maleimide. When the amino fibril obtained from nitric-acid-izing / reduction (example 13) was used, and the capacity of an antibody was 1.84mg per fibril 1g, when the amino fibril guided from carboxyl fibril was used, it was 0.875mg per fibril 1g.

Example 26 From the fibril organic-functions-ized with the carboxylic acid Manufacture of ester / alcoholic derivative The fibril organic-functions-ized with the carboxylic acid was manufactured like an example 14. The carboxylic-acid content was 0.75 meq/g. It carried out until generating of CO₂ stopped the reaction of fibril and CDI of the amount of stoichiometries in the inert atmosphere as a solvent at the room temperature using toluene. It had little NaOEt as a polyethylene glycol (molecular weight 600) with a superfluous mol, and a catalyst 10 times, and this slurry was made to react at 80 degrees C by after that. Filtration separated fibril after the 2-hour reaction, and it washed with toluene, and dried at 100 degrees C.

Example 27 Fibril organic-functions-ized with the carboxylic acid (177-041-1)

since -- manufacture of an amide / amine derivative The fibril (0.62 meq/g) which oxidized with the 0.242g chlorate in 20ml anhydrous dioxane was made to suspend, stirring in 100ml RB flask equipped with the Ceram stopper (serum stopper). N-hydroxysuccinimide (0.299g) with a superfluous 20 time mol was added, and it was made to dissolve. this -- then, the 1-ethyl-2-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDAC) (0.510g) with a superfluous 20 time mol was added, and stirring was continued at the room temperature for 2 hours.

The stop and the supernatant were attracted for stirring, immobilization was washed by anhydrous dioxane and MeOH, and it filtered by the 0.45micro polysulfone film next. The solid-state was further washed by MeOH on the filter diaphragm, and the vacuum drying was performed until the weight fall was no longer observed. The yield of the oxidization fibril activated by NHS was 100% based on observed 6% increase in quantity.

The ethylenediamine (en) of 100microl was added into the buffer solution of 10ml NaHCO₃ of 0.2M. The acetic acid (HOAc) of the amount of isochore was added, and pH was maintained about to eight. Oxidization fibril activated by NHS while stirring violently (0.310g)

***** -- and it was made to react for 1 hour en of additional 300microl and HOAc of 300microl were added in 10 more minutes. The solution was filtered by 0.45micro polysulfone film, and it washed in order by the NaHCO₃ buffer solution, 1% of HCl, DI water, and EtOH. The vacuum drying of the solid-state was carried out overnight. This HCl salt was returned to the isolation amine by the reaction with NaOH for the further analysis and a reaction (177-046-1).

ESCA was performed in order to quantify the amount of N which exists on this amination fibril (GF/NH₂).

ESCA analysis of 177-046-1 showed N of 0.90 atom % (177-059). Furthermore, in order to generate correspondence Schiff base association by the primary-amine radical available in order to investigate the amount of which of this N exists as a reactant AKUSESHIBURU radical, gaseous phase reaction with a pentafluoro benzaldehyde generated the derivative. ESCA analysis showed F of 0.91 atom % still more as expected and 1.68 atom %. This becomes an interpretation that N of 0.34 atom % exists as a reactant primary amine on amination fibril (five F per pentafluoro benzaldehyde molecule). It will be expected that the level of N of 0.45 atom % takes over a full reaction by the N free end each. The observed level is carrying out the index of the very high yield from the reaction of N by the fibril activated by NHS, and is checking the reactivity of an available free amine radical.

in the level of N of 0.34 atom % which exists as a free amine computed from ESCA data, fibril is almost perfect by the free amine radical which allows coupling of other ingredients -- it will be covered.

Carboxyl fibril was too converted into amino fibril using not ethylenediamine (linker of two carbon) but 1 which carried out Monod protection, and 6-diaminohexan (linker of six carbon).

Example 28 From the fibril organic-functions-ized with the carboxylic acid Manufacture of an amine derivative The carboxyl group on fibril can be embellished by making the carboxyl group react with one amino group of the compound which has two or an amino group beyond it (at least one of them is not protected by radical like t-Boc or SBZ). Then, the generated fibril is an amide derivative, amide carbonyl is guided from the fibril carbonyl group, and amide nitrogen is permuted by the radical (for example, alkyl group) containing one or the primary-amine radical beyond it there. And since these amino groups are use, they are available because of the further qualification.

1g carbon fibril was put in into the dry sintered glass filtration funnel by which the outlet is completely stopped by the rubber SERAMU diaphragm, and anhydrous dichloromethane was added and covered.

N-methyl morpholine (758microl, 7 millimol) was added, and this suspended solid was mixed with the help of the knife. And isobutyl chloro formate (915microl, 7 millimol) was added, and 1 hour mixed this suspended solid periodically. Mixture was protected from atmospheric moisture with covering of parafilm to the extent that it is practical use.

N-boc -1 and 6-diaminohexan hydrochloride (1.94g, 7.7 millimol) were distributed between dichloromethane (10mL) and 1-N NaOH (10mL) between them. The latter organic phase was dried with anhydrous potassium carbonate, and it filtered through disposable Pasteur pipette which has a cotton plug, and N-methyl morpholine (758microL, 7 millimol) was added.

The Ceram diaphragm was removed from the filtration funnel, and filtration under reduced pressure removed the reagent from fibril, and fibril was washed by anhydrous dichloromethane. The Ceram diaphragm was attached again and the mixture of N-methyl morpholine and mono-protection diaminohexan was added to fibril. 1 hour stirred mixture periodically. And filtration removed the reagent and dichloromethane, a methanol, water, a methanol, and JIKURO methane washed fibril in order.

A truffle ROORO acid and 50% mixture of dichloromethane were added to fibril, and mixture was periodically agitated for 20 minutes. Filtration removes a solvent and it is dichloromethane, a methanol, water, and 0.1M about fibril. KNaOH and water washed in order.

In order to prove the efficacy of this approach, the small sample of amino fibril was made to react with the horseradish peroxidase (HRP;5mg, pierced earring) which is embellished so that it may react unique with the amino group and "which was activated." Fibril was repeatedly washed for several days, keeping it cold (suspension, rotation, and centrifugal separation in Eppendorf tubing). After about two weeks, the enzyme was authorized by H2O2-/ABTS in glycine buffer-solution and pH4.4**. Green appeared in the solution within 10 minutes, and it meant existence of an enzyme. Contrast fibril (COOH fibril which it is processed in activity HRP and washed during the same period) was hardly shown, even if there was a certain catalytic activity.

Example 29 From the fibril organic-functions-ized with the carboxylic acid Manufacture of a silyl derivative The acid organic-functions-ized fibril manufactured like an example 14 was slurred in dioxane in the inert atmosphere. Stirring, the chloro triethyl silane of the amount of stoichiometries was added, and it was made to react for 0.5 hours and several drops of 5% solutions of DABCO in dioxane were added after that. This system was made to react for further 1 hour, and filtration recovered fibril after that, and it washed in dioxane. Fibril was dried at 100 degrees C by 5" vacuum overnight.

Manufacture of a second-grade induction object was summarized in Table 5. By ESCA, the product was analyzed about the surface content of C, O, N, Si, and F.

Table V Conclusion of manufacture of a second-grade induction object

		ESCA 分 析, 原 子 %					
反 応 体	垂 下 基	S	C	N	O	Si	F
成長 A s	----	--	98.5	--	1.5	--	--
塩素酸塩 酸化物	-COOH, C=O, C-OH	--	92.4	--	7.6	--	--
H ₂ N-C ₂ H ₄ -NH ₂	-CONHC ₂ H ₄ NH ₂	--	99.10	0.90	--	--	--
	-CONHC ₂ H ₄ N=OC ₆ F ₅	--	97.41	0.91	--	--	1.68

Example 30 From the fibril organic-functions-ized with the carboxylic acid Manufacture of a silyl derivative The acid organic-functions-ized fibril manufactured like an example 14 was slurred in dioxane in the inert atmosphere. Stirring, the chloro triethyl silane of the amount of stoichiometries was added, and it was made to react for 0.5 hours and several drops of 5% solutions of DABCO in dioxane were added after that. This system was made to react for further 1 hour, and filtration recovered fibril after that, and it washed in dioxane. Fibril was dried at 100 degrees C by 5" vacuum overnight.

Manufacture of a second-grade induction object was summarized in Table 6. ESCA analyzed the product.

Analysis checked installation of a predetermined suspension radical. By ESCA, the product was analyzed about the surface content of C, O, N, Si, and F.

Front VI Conclusion of manufacture of a second-grade induction object

ESCA 分 析, 原 子 %

反 応 体	垂 下 基	S	C	N	O	Si	F
$\text{CF}_3\text{CH}_2\text{OH}$	$-\text{COOCH}_2\text{CF}_3$						
PolyEG-600	$-\text{CO}-(\text{OC}_2\text{H}_4\text{O})-\text{H}$						
$\text{HO}-\text{C}_2\text{H}_4-\text{SH}$	$-\text{COOC}_2\text{H}_4\text{SH}$						
$\text{Cl}-\text{SiEt}_3$	$-\text{COSiEt}_3$						

example 31 From the fibril organic-functions-ized with the carboxylic acid Manufacture of the third and a quaternary amine derivative the third and a quaternary amine functional group -- the amine of the carboxyl group on a nanotube, the third, or a quaternary amine precursor, or the hydroxyl -- it can be made to join together on the surface of a carbon nanotube through one of the amides or ester bonds by the radical This the third or quaternary amine fibril is effective as MATOKURIKKUSU for chromatographies for separating biocatalyst. The third or quaternary amine fibril can be processed into the mat of a disk configuration, or can be mixed with the usual chromatography use medium for separation (for example, agarose).

Manufacture of a triethyl ethanolamine iodide precursor 10g N,N-diethylethanolamine (85.3 millimol) was mixed with the 10ml anhydrous methanol in the 100ml round bottom flask. And the mixture of a 20g ethyl iodide (127.95 millimol) and a 10ml anhydrous methanol was dropped using the pipet. This reaction mixture was flowed back for 30 minutes. When a reaction mixture was cooled radiationally to a room temperature, the crystalline white product was formed. These white solid-state products were collected by filtration, and the anhydrous methanol washed. Furthermore, the product was dried in the desiccator under the vacuum overnight. 33% with yield, the product (10.3g, 37.7 millimol) was obtained.

Manufacture of the graphite nature fibril organic-functions-ized by quaternary amine 25ml WITON (Wheaton) disposable scintillation which carried out the vacuum drying In the vial, 100mg desiccation carboxyl fibril (per fibril 1g COOH of about 0.7 millimols) was mixed with 2ml anhydrous dimethylformamide, and this mixture was ultrasonicated for 60 seconds. Two moreml dimethylformamide, 39mg dimethyl-aminopyridine (0.316 millimol), and the diisopropyl carbodiimide (0.316 millimol) of 50microl were added to the reaction vial. This reaction mixture was stirred at the room temperature for 1 hour, 88mg triethyl ethanolamine iodide (0.316ml) was added to the vial, and it reacted overnight. Deionized water washed the obtained fibril 3 times at 3 times and the last 3 times with the 20ml methylene chloride 3 times by 20ml dimethylformamide at the methanol. The vacuum drying of the product was carried out. The result from the ultimate analysis of nitrogen showed that about 50% of the carboxyl group on fibril had reacted with the first amino group in a quaternary amine component.

Example 32 On quaternary amine organic-functions-ized graphite nature fibril Chromatography of bovine serum albumin (BSA) The aquosity slurry containing the carboxyl fibril and the 180g SEFEDEKKUSU (Sephadex) G-25 super fine resin (Pharmacia (Pharmacia), Sweden, Uppsala **) which were embellished with 60mg 2-diethylamino ethylamine was left at the room temperature overnight, and perfect hydration of a solid-state base material was ensured. The 1cmx3.5cm column was filled up with this slurry. The column was made the balance by part for 0.2ml/of the 5 rates of flow of the sodium phosphate buffer solution (pH7.3) of mM(s). The column was loaded with BSA (inside of 0.6mg and 0.1ml of deionized water). Elution of the column was carried out by part for 0.2ml/of the 5 rates of flow of the sodium phosphate of mM(s), and 0.6ml ***** were collected. It acted as the monitor of the elution profile using the UV-visible detector, and it was shown in drawing 3 . For a column to protein, a detector is 1M in the sodium phosphate (pH7.3) of 5mM, when it is shown that elution is not carried out any more. Elution of the association BSA was carried out by adding KCl. Existence of the protein in each fractionation was identified by MAKUIRO BCA assay (a pierced earring, the Illinois Rockford **).

Example 33 On quaternary amine organic-functions-ized graphite nature fibril Chromatography of bovine serum albumin (BSA) The aqueosity slurry containing the carboxyl fibril and the 300g SEFEDEKKUSU G-25 super fine resin which were embellished with 100mg 2-(2-triethyl aminoethoxy) ethanol was left at the room temperature overnight. The column with a diameter of 1cm was filled up with the obtained slurry. The column was made the balance with the sodium phosphate buffer solution (pH7.3) of 0.1-0.6ml 5mM(s) for /of the rates of flow. The column was loaded with BSA (in 2.7mg and 0.2ml of deionized water). Elution of the column was carried out by part for 0.2ml/of the 5 rates of flow of the sodium phosphate of mM(s), and 0.6ml ***** were collected. It acted as the monitor of the elution profile using the UV-visible detector (drawing 4). In the sodium phosphate buffer solution of 5mM(s), when the detector showed that elution of the protein was not carried out from a column, it has already changed the solvent into KCl of 1M in the sodium phosphate (pH7.3) of 5mM(s). Existence of the protein in each fractionation was identified by MAKUIRO BCA assay (a pierced earring, the Illinois Rockford **).

9. Formation of enzyme-organic functions of graphite nature carbon Graphite nature carbon, especially carbon Biocatalyst can be used for introducing a functional group into the front face of nanotube **. Until now, graphite nature carbon was purely embellished by the chemical means (see the United States patent application 08th for which it applied on December 8, 1994 / No. 352,400). These chemical approaches are lack (for example, oxidation introduces the radical of COOH, and CPH and CHO) of; (1) severe condition (use of extreme temperature, extreme activity, or a poisonous chemical) which has the following faults, and (2) singularity. The aqueosity suspended solid of solid-state graphite nature carbon (for example, carbon fibril; hyper-ion company) contains one which can perform the chemical reaction which brings about the graphite nature carbon which could receive graphite nature carbon as a substrate, and was embellished chemically, or the enzyme beyond it, and is manufactured. An aqueosity suspended solid is maintained by conditions (**, such as temperature, pH, and salt concentration) permissible in order that enough time amount enzymes (an unit or plurality) for an enzyme (an unit or plurality) to embellish the front face of graphite nature carbon in catalyst may react.

During a reaction, in order to enable an enzyme (an unit or plurality) to approach the front face of graphite nature carbon, continuation mixing of the suspended solid is carried out. After reaction time permissible since a reaction advances to a satisfactory degree, an enzyme is removed from carbon by filtration washing. today -- until -- :cytochrome p450 enzyme with which the enzyme of two types has been used, and a peroxidase enzyme. The type of an enzyme is studied enough, and, as for them, both cases permit the substrate of the type of aromatic series, and those optimal reaction conditions are studied. ; and hydroxyl with which both of the types of an enzyme introduce hydroxyl into those substrates will be introduced in graphite nature carbon. Besides the enzyme, other biocatalysts, for example, a ribozyme, and a catalyst-antibody, or the abiosis study-mimicry of an enzyme should be able to be designed so that a carbon nanotube may be organic-functions-ized in catalyst.

Example 34 Formation of enzyme-organic functions which uses a rat hepatic microsome Generally cytochrome p450 enzyme is considered to function as an antidote in liver (F. Peter Guengerich, American Scientist, 81,440-447 and F.Peter Guengerich, J.Biol.Chem., 266, 10019-10022).

. They hydroxylate an outpatient department compound like the Pori aromatic series toxicity compound. Hydroxylation makes it possible to become water solubility so that these compounds can disappear from the body with urine. Many cytochrome p450 various enzymes exist in liver, and it has the substrate specificity from which each differs. Since the range of the environmental toxin which requires detoxication is wide, it is thought that the singularity of these large range is important. Although each cytochrome p450s is commercially available, the information about whether the either receives a carbon nanotube as a substrate is not available. This uncertainty, therefore this invention persons decided to incubate together with the rat liver extract which contained first cytochrome p450s when a large number differ a carbon nanotube.

In order to make the rat (rat "for an experiment") of two bodies induce the manifestation of cytochrome p450 enzyme, it is FENOBABI tar (1 g/L, pH7.0) in those potable water.

A medicine was prescribed for the patient for one week. The water which does not contain FENOBABI tar was given to another rat ("contrast" rat) of two bodies. And the microsome which contains cytochrome p450s from those liver at the sacrifice of a rat with a standardized procedure (it is the following reference reference:Methods in Enzymology, Vol, and 206) was prepared.

The microsome was mixed with the carbon nanotube (fibril) and cytochrome p450s was made to react with graphite nature carbon. In this experiment, the tris of 0.1M, NADPH of 1.0mM, 0.01% of NaN₃, the glucose-6-phosphate of 10mM, Glucose-6-phosphate In the solution [finishing / processing by the buffer] containing a dehydrogenase (one unit / mL) and pH7.4 5mg fibril (both "a plane, i.e., non-organic-functions-ized fibril," and "COOH", i.e., oxidization fibril) was mixed with the microsome (microsome of both the object for an experiment, and contrast). It is included as a cosubstrate for cytochrome p450s, and NADPH is glucose-6-phosphate and glucose-6-phosphate. The dehydrogenase was added in order to reproduce NADP⁺ to NADPH (when NADP⁺ is generated by cytochrome p450s). Mixture will be rotated at a room temperature in a micro centrifuging tube for about 1.5 days. Fibril was extensively washed after the incubation by deionized water, HCl of 1M, NaOH of 1M, 0.05% of triton (Triton) X-100, 0.05% of Tween (Tween), the methanol, and NaCl of 1M. It was shown after washing that the micro BSA assay for protein (pierced earring) seemingly, in addition, has protein with which fibril was combined with it (however, protein was not detected by the penetrant remover). In order to measure whether it is that hydroxyl was introduced on the fibril front face, fibril was made to react with an N-FMOC-isoleucine. the fibril (contrast and for an experiment) (1.5mg of each) of a different batch was made to react with 333 microliter of 1 of the FMOC-isoleucine of 4.45 mg/mL, the dimethylamino pyridine (DMAP) of 1.54 mg/mL, and 2.6 mg/mL, and the solution of the desiccation DMF containing 3-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) (while carrying out continuation rotation) After the reaction for two days, DMF, a piperidine, SOTANORU, water, DMF, the methanol, and the methylene chloride (every 600microL) washed fibril. This washing sequence was repeated 3 times. For the amino acid analysis about the isoleucine which existed, fibril was sent to the Galbraith lab (Galbraith Laboratories) (the Tennessee Knoxville (Knoxville) **). Since many other amino acid was seen besides the isoleucine, a result does not clarify, but it means that the protein which existed in the rat hepatic microsome extract, a peptide, and amino acid were not completely washed from fibril away. Therefore, it was not able to determine whether to have been that the technical difficulty in washing and analysis, therefore cytochrome p450s organic-functions-ized fibril. Example 35 It is recombination cytochrome p450 available enzyme commercially. Organic-functions-izing of the fibril to be used In order to avoid the impurity relevant to using a rat hepatic microsome as a source for cytochrome p450s, each cytochrome p450 enzyme was purchased (a JIEN test (GENTEST), MA state HOBAN (Woburn) **). Since cytochrome p450 enzyme is activity in connection with the film, these enzymes are supplied as a microsome preparation object. It is :CYP one A1 (catalyst #M111b), CYP1A2 (catalyst #M103c), CYP2B6 (catalyst #M110a), and CYP3 A4 (catalyst #M107r containing reductase) to which the reaction procedure similar to the above-mentioned thing was used, and this invention persons examined the following cytochrome p450s. In a reaction solution, it is MgCl₂ (0.67 mg/mL).

It ***** (ed). In this experiment, fibril was washed with the assistance of Soxhlet equipment.

The reaction of the fibril which reacted with the cytochrome p450 and was washed, and the coloring reagent 3 and 5-dinitro benzoic acid (DNBA) performed analysis of the introduced hydroxyl. Coupling went as it was explained above about the N-FMOC-isoleucine. DNBA (covalent bond was carried out) which washed fibril by DMF after the reaction with DNBA, and remained was hydrolyzed using HCl of 6M or 46 units / Buta liver esterase (sigma) of ml. HPLC analysis of the supernatant which encloses the fibril after hydrolysis processing performed analysis of released DNBA. HPLC analysis of released DNBA -- Vydac the line to the acetonitrile (solvent B) which is the Waters (Waters) HPLC system equipped with C18 opposition analysis column (catalyst #218TP54), and contains 0.1% of TFA from the deionized water (solvent A) containing 0.1% of TFA -- it carried out by being inclination.

An example 36 Organic-functions-izing of the fibril which uses a peroxidase The reference description about peroxidase substrate specificity it included that a carbon nanotube might be a substrate for these enzymes (it Biochemistr(ies) (1986) J. -- S.Dorick et al. --) 25 and 2946-2951; D.R.Buhler et al., Arch.Biochem.Biophys. (1961)92,424-437; H.S.Mason, Advances in Enzymology, 19 (1957), and 79; G.D.Nordblom et al., Arch.Biochem.Biophys.(1976)175,524-533. It is horseradish in the solution (1.25 mL, pH5.0) which contains the sodium acetate of 50mM for fibril (11mg) in order to measure whether a peroxidase (a hydrogen peroxidase, Type II, sigma) can introduce hydroxyl on the front face of fibril. It mixed with the peroxidase (200nM), and the first 3 hours of a reaction added the dihydroxy fumaric acid (15mg) by 5mg. The reaction was performed on the whole at 4 degrees C for 5 hours, blowing gas oxygen intermittently. Water, 1-N NaOH, the methanol, and the methylene chloride (200 mL(s) each) washed fibril after the reaction. The contrast reaction was performed

using the peroxidase (it is 5 minutes at 100 degrees C) by which heat inactivation was carried out.

In order to analyze the magnitude of the hydroxylation of fibril by which the catalyst was carried out by the peroxidase, fibril was made to react with t-butyldimethylsilyl chloride (Aldrich) under existence of an imidazole in Desiccation DMF. Fibril was sent to the Robertson MIKURORITTO lab (Robertson MicroLit Laboratories, Inc) (the State Madison ** of NJ) after washing of fibril for the ultimate analysis of the silicon introduced into fibril. The result of analysis did not clarify about existence of the silicon on the front face of fibril. It is thought that the silicon from the glassware used for the experiment existed in the small chip in the fibril submitted for ultimate analysis. This brought about high silicon level in both the sample for an experiment, and the contrast sample. measuring the existence of the hydroxyl with which this invention persons were introduced since it was technically difficult although it came out, and he intended to be and it was to which the peroxidase introduced hydroxyl into fibril in the conclusion of an experiment was barred.

10. Electronic affinity object addition on an anoxia fibril front face Or nanotube organic-functions-ized by metalization The main products which can be obtained by adding the activated electronic affinity object to an anoxia fibril front face have -COOH [of sag], -COCl, -CN, -CH₂NH₂, -CH₂OH, -CH₂-, halogen, or HC=O. These can be converted into a second-grade induction object by the next reaction. :

Fibril-COOH -----> 上記参照

Fibril-COCl(酸塩化物) + HO-R-Y ----> F-COO-R-Y

(Sec. 4 / 5)

Fibril-COCl + NH₂-R-Y -----> F-CONH-R-Y

Fibril-CN + H₂ -----> F-CH₂-NH₂

Fibril-CH₂NH₂ + HOOC-R-Y ----> F-CH₂NHCO-R-Y

Fibril-CH₂NH₂ + O=CR-R' Y -----> F-CH₂N=CR-R'-Y

Fibril-CH₂OH + O(COR-Y)₂ -----> F-CH₂OCOR-Y

Fibril-CH₂OH + HOOC-R-Y -----> F-CH₂OCOR-Y

Fibril-CH₂-Halogen + Y⁻ -----> F-CH₂-Y + X⁻

Y⁻ = NCO⁻, -OR⁻

Fibril-C=O + H₂N-R-Y -----> F-C=N-R-Y

11. The DIN DORIMA nature nanotube The concentration of the functional group on the front face of a nanotube can be increased by embellishing a nanotube by a series of generations of the polyfunctional reagent which brings a result in which the number of unique functional groups increases by each generation, and forms Mr. DIN DORIMA's (dendrimer) structure. It is because the obtained DIN DORIMA nature nanotube is effective there especially as a solid-state base material for fixing protein by covalent bond, because they make the consistency of the protein fixed by the nanotube front face increase. The high density of a chemistry functional group with unique this invention was difficult if a real proof and it carried out that the front face of the granular carbon of high surface area could be given with the carbon of the conventional high surface area. Example 37 Manufacture of lysine system DIN DORIMA Reaction sequence is shown in drawing 5. To the

suspended solid of the amino fibril (90mg) in sodium bicarbonate (5ml, 0.2M, pH8.6), they are Na in dioxane (5ml), and a NR-G t-boc-L-lysine. N-hydroxysuccinimide The solution of ester (120mg, 0.27 millimol) was added. This reaction mixture was stirred at the room temperature overnight. With water, the methanol, and the methylene chloride, the lysine fibril protected by tert-butoxycarbonyl was washed completely, and carried out the vacuum drying. And the lysine fibril protected by tert-butoxycarbonyl was processed at the room temperature with the trifluoroacetic acid (5ml) in a methylene chloride (5ml) for 2 hours. With a methylene chloride, a methanol, and water, product amino lysine fibril was washed completely, and carried out the vacuum drying. Manufacture of the lysine fibril of the second and third generations followed the same procedure. As for amino-acid-analysis data, the lysine fibril of the first generation contained the lysine of 0.6 micromole per fibril 1g, the lysine fibril of the second generation contained 1.8 micromole per fibril 1g, and it was shown that the lysine of the third generation has the lysine of 3.6 micromole per fibril 1g.

Carboxyl The DIN DORIME rucksack Fibril can be manufactured by the same approach by using an aspartic acid or a GURITAMIN acid with carboxyl fibril.

Example 38 Manufacture of carboxylate end DIN DORIMA Carboxylate end DIN DORIMA which has a carbon nanotube (CN) core can be serially manufactured by initiation by the NHS ester of the coupling and the carbon fibril which oxidized with the chlorate of amino butyl-nitrilotriacetic acid (NTA) for generations. Manufacture of NTA NTA was manufactured according to the approach (E. Hochuli, H.Dobeli, and A.Sebacher, J.Chromatography, 411,177-184 (1987), and its contents are incorporated into this application specification) of HOCHURI (Hochuli).

Manufacture of CN/NHS CN/NHS was manufactured according to the approach of an example 20.

Manufacture of CN/NTA 0.4g NTA-HCl was dissolved into 25ml NaHCO₃ of 0.2M, and pH8.1**. In order to return pH to 7.8, 1-N NaOH was added. 0.5g CN/NHS is added, and it was made to react for 30 minutes, ultrasonicated mixture and stirring the obtained slurry, in order to distribute CN. The slurry was filtered on the 0.45-micrometer nylon film, and the carbonate buffer solution of pH8.1 washed twice with 2 times and DI water on the filter. embellished CN is re-suspended twice by sonication in 25ml MeOH -- making -- filtering -- a solid-state -- it was made the cake and, finally dried by the vacuum desiccator.

Manufacture of CN/NTA/NTA CN/NTA was first converted into NHS activity ester. It moved to 100ml RB flask which dried 0.386g CN/NTA in 90-degree C oven for 30 minutes, and contained 30ml anhydrous dioxane, and was purged with the argon. Stirring, subsequently 0.67g EDC was added and continuation stirring of the 0.4g N-hydroxysuccinimide was carried out for further 1 hour. CN tended to be condensed mutually inside in the meantime. Dioxane was decanted and thrown away and the solid-state was washed twice by 20ml anhydrous dioxane. Washing the solid-state by anhydrous [20ml / MeOH], condensation broke in the meantime. The solid-state was filtered by the 0.45-micrometer nylon film, and it was made to re-suspend in MeOH, and filtered, and MeOH washed on the filter.

0.2g NTA was put into the 50ml flask, and it dissolved by ten drops of 1-N NaOH. NaHCO₃ and pH8.1 of 20ml 9.2M are added, and all CN/NTA/NHS is added, and it is a probe about a solution. It ultrasonicated lightly by SONIKETA. Mixture was made to react at a room temperature for 2.5 hours. Embellished CN was filtered by the 0.45-micrometer nylon film, and the carbonate buffer solution washed twice, and it was made to re-suspend by sonication in DI water, and filtered, and DI water washed. And they were put in into the vacuum desiccator and it dried.

Manufacture of CN/NTA/NTA/NTA NTA of additional level was added according to the above-mentioned procedure.

Manufacture of CN/NTA/NTA/NTA/NTA NTA of additional level was added according to the above-mentioned procedure.

Each sample (about 10mg) of four generations of NTA addition was made to suspend by sonication in 10ml DI water, and it filtered by the 0.45-micrometer nylon film, and the felt-like mat was formed. The mat intercept was stored into the vacuum desiccator, and ESCA analyzed nitrogen (N), and the relative amount of NTA was shown. A result is shown in the following table.

** Charge N % by ESCA CN/NTA 0 CN/NTA/NTA 1.45 CN/NTA/NTA/NTA 1.87 CN/NTA/NTA/NTA/NTA 2.20 The ESCA result has proved installation of the increasing amount by each generation to continue.

Example 39 Carbon nanotube DIN DORIMA as a protein base material The consistency of the protein fixed on the carbon nanotube may increase greatly by using the fibril induction-ized so that DIN DORIMA might be

supported. Horseradish The peroxidase (HRP) was fixed on the DIN DORIMA 1 nature nanotube according to the following approach. : It is sodium bicarbonate about plane fibril (0.49mg), amino fibril (0.32mg), the lysine fibril (0.82mg) of the first generation, the lysine fibril of the second generation, and the lysine fibril of the third generation. It ultrasonicated for 15 minutes at the room temperature with the conjugate buffer solution (600microl, 0.1M, and 0.9% of NaCl are contained). And it is sodium bicarbonate about them. With the HRP solution in the conjugate buffer solution (490ml, 5.6mg [/ml] enzyme stock solution), it incubated at the room temperature for 19 hours. It is [pH / containing :0.9% NaCl which is the following buffer solution (1ml) and washed the fibril which fixed HRP / the NaHCO₃ buffer solution of 10mM(s) and pH9.5 (buffer solution for 1X washing)] 3 times at 50% of ethylene glycol in 5 times and the buffer solution for 1X washing in 0.1% of triton X-100 in 7 times and the buffer solution for 1X washing. The activity of HRP is a hydrogen-peroxide solution (10microl, 10mM stock solution) and GURISHIJIN. It authorized by 414nm by the 2 in the assay buffer solution (50 mM, pH4.4), and 2-horse mackerel novice (3-ethylbenzo thiazoline)-6-sulfonic-acid NIAMMONIUMU salt (ABTS, 3microl, mM stock solution). The result was shown in the next table. : Fibril nmol HRP/g, fibril Plane fibril 3.82 Fib-NH₂ 8.58 Fib-NH-Lys 28.09 Fib-NH-Lys₂ (Lys) 28.30 Fib-NH-Lys₄ (Lys) 46.28 12. -- bifunctional fibril even -- the functional group of a type -- many (for example, a carboxyl group and amino group) -- introducing into coincidence on fibril By making the organic-functions-sized nanotube, for example, a carboxy nanotube, react with amino acid showed that it could do. Especially this bifunctional nanotube is the amount of stoichiometries of 1:1, and can use many molecules for making it approach and fixing.

Example 40 Manufacture Na-CBZ-L-lysine of the bifunctional fibril by addition of a lysine Benzyl Composition of ester Reaction sequence is shown in drawing 7 . The NE-(tert-butoxycarbonyl)-L-lysine (2g, 8.12 millimol) was dissolved into a methanol (40ml) and water (40ml), and pH was adjusted to 8 by triethylamine. The solution (2.4g in 20ml, 9.7 millimol) of N-(benzoyloxy carbonyl oxy-) succinimide in dioxane was added to the above-mentioned mixture, and pH was maintained to 8-9 by triethylamine. The reaction mixture was stirred overnight. a solvent -- rotation evaporation -- removing -- rough -- the Na-CBZ-NE-(tert-butoxycarbonyl)-L-lysine was obtained. The Na-CBZ-NE-(tert-butoxycarbonyl)-L-lysine was processed by the sodium carbonate (4ml) of 0.2M, and the aqueosity layer was removed, and the white solid-state was obtained. a solid-state -- N.N-dimethylformamide (40ml) and bromination -- it was made to re-suspend in benzoyl (1.16ml) The reaction mixture was stirred at the room temperature overnight. The reaction mixture was mixed with ethyl acetate and water, and the organic phase was dried with magnesium sulfate. a solvent -- removing -- rough -- Na-CBZ-NE-(tert-butoxycarbonyl)-L-lysine Benzyl Silica gel which obtains ester and uses 25% hexane in ethyl acetate by making it into a solvent The chromatography refined. Na-CBZ-NE-(tert-butoxycarbonyl)-L-lysine in a methylene chloride (10ml) Benzyl Trifluoroacetic acid was added to ester (1g, 2.2 millimol) at 0 degree C. The reaction mixture was stirred at 0 degree C for 10 minutes, and it stirred at the room temperature for further 2.5 hours. The solvent was removed and the rough product was obtained. It is a pure Na-CBZ-L-lysine by the silica gel chromatography. Benzyl Ester was obtained. Na-CBZ-L-lysine Benzyl Ester Composition of fibril To the suspended solid of the carbonyl fibril (300mg) in a methylene chloride (18ml), it is a Na-CBZ-L-lysine. Benzyl Ester (inside of the triethylamine of 148mg, 0.32 millimol, a 20ml methylene chloride, and 176microl) was added. And HOBT (43.3g, 0.32 millimol) and EDC (63.3mg, 0)

32 millimols were added. The reaction mixture was stirred at the room temperature overnight, and the rough product was obtained. A methanol, a methylene chloride, and water washed product fibril on a large scale, and the vacuum drying was carried out.

Functionality fibril Composition of Fib-Lys (COOH) NH₂ Na-CBZ-L-lysine in a methanol (4ml) Benzyl Ester The sodium hydroxide (1 N, 4ml) was added to fibril (113mg), and the reaction mixture was stirred overnight. Water and a methanol washed product Na-CBZ-L-lysine fibril on a large scale, and the vacuum drying of the fibril was carried out. Trimethylsilyl iodide (1ml) was added to the suspended solid of the Na-CBZ-L-lysine fibril (50mg) in aceto NITORINI (4ml). Mixture was stirred at 40 degrees C for 3 hours. Water, a methanol, 0.5-N hydroxylation thorium, the acetonitrile, and the methylene chloride washed the last bifunctional fibril on a large scale. Analysis of amino acid showed the lysine of 0.3 micromole per fibril 1g.

The bifunctional fibril of the hydroxyl and carboxyl (or amino) can be manufactured by the approach similar to having indicated here by using a serine, a threonine, or thiosin. The bifunctional fibril of thiol-izing and

carboxyl (or amino) can be manufactured using a cysteine. The bifunctional fibril of carboxyl and amino can be manufactured using an aspartic acid or glutamic acid.

Application of the organic-functions-sized nanotube The organic-functions-sized graphite nature nanotube is [whenever / high pore] useful as chemical and a solid-state base material [in / by physical stability and high surface area / many biotechnology fields]. The thing with severe them which it is compatibility and is very been easy to receive chemical organic-functions-ization in chemical and thermal processing became clear. For example, an enzyme can be fixed by covalent bond on the embellished nanotube, maintaining the biological activity. Moreover, the nanotube also fits the application as a base material for affinity chromatography in separation of a living thing molecule. For example, since enzyme inhibitor was prepared on the nanotube in multistage story composition, the fixed inhibitor was able to approach the macromolecule and reversible unique biological recognition took place between protein and qualification fibril.

The hydrophobicity on the front face of a nanotube is not enough to fix proteinic high density by adsorption. In order to make the hydrophobicity on the front face of a nanotube increase, and in order to extend a hydrophobic environment to three dimensions from two dimensions, the nanotube front face was made to carry out coupling of the alkyl chain of various die length. A trypsin, alkaline phosphatase, lipase, and avidin are contained in the protein fixed by adsorption on the alkyl nanotube. The enzyme activity of the these-fixed protein was equal to the thing of a free enzyme, and it was proved with the catalyst effectiveness which goes to hydrolysis of those substrates in the inside of a water solution.

In addition, the phenyl-alkyl nanotube which is an alkyl nanotube which has addition of a phenyl group at the end of an alkyl chain was also manufactured. This qualification introduced the aromatic series structure which interacts with the amino acid phenylalanine in protein, a thyrosin, and a tryptophan through a pi-pi interaction. Adsorption of the alkaline phosphatase to a phenyl-alkyl nanotube top and lipase was equal to adsorption of a up to [a C8-alkyl nanotube].

It became clear that the organic-functions-sized fibril is also effective as a solid-state base material for protein synthesis.

1. About Nanotube 10Mg Carboxyl Fibril (it Contains about 0.007 Millimols of -COOH Radicals (-COOH/Mg Fibril of Fibril X0.7 10Mg Millimol = 0.007 Millimol)) Organic-Functions-Ized as a Solid-state Base Material for Enzyme, it is EDA (1-Ethyl-3- (3-Dimethylaminopropyl)) of 0.14 Millimol. Example 41 Manufacture of Fixed Alkyl Fibril of Enzyme by Adsorption

Alkyl fibril was manufactured by using DMAP (4-dimethylaminopyridine) of a carbodiimide and 0.14 millimols, and making it react with the alkylamine of 0.14 millimols in 1.5ml DMF (N,N-dimethylformamide). The chemical reaction is as follows. :



the alkyl fibril from which some which have the alkyl chain (the case of n= 5, 7 and 9, and 17;n=5 -- R -- OH) of different die length with this procedure differ was manufactured.

After stirring the system of reaction at a room temperature overnight, 3x25ml CH₂Cl₂ and 3x25ml MeOH, and 3x25ml dH₂O washed fibril violently. The elemental analysis about the nitrogen content in fibril showed that the yield of a reaction was 65 - 100%.

Adsorption of an enzyme Enzyme lipase, a trypsin, alkaline phosphatase, and avidin were fixed by adsorption on the alkyl fibril of this example. Sodium phosphate of 5mM after mixing an enzyme with an alkyl phthalocyanine at a room temperature for 3 to 4 hours (pH7)

It washed 2 to 4 times by l). On C6-, C8-, C10-, and C18-fibril.; lipase was fixed on C8OH-, C8-, C10-, and C18-fibril, and; and avidin were fixed for; trypsin by which alkaline phosphatase was fixed on C8-fibril and C8OH-fibril at the C8-fibril top.

The result is shown in the next table. :

酵 素	$\mu\text{mol/g}$ フィブリル	mg/g フィブリル
リパーゼ	6. 8	8 1 6
トリプシン	1. 7	4 0
アルカリ性ホスファターゼ	0. 6 6	5 6
アビジン	not determined	

It became clear that it was equal to it of a free enzyme as the reaction rate property of immobilized enzyme is

酵 素	K_m (M)	K_{cat} (s^{-1})	K_{cat} / K_m ($\text{M}^{-1} \text{s}$)
リパーゼ	4.0×10^{-6}	0.040	0.99×10^3
リパーゼー フィブリル	3.6×10^{-6}	0.048	1.34×10^3
トリプシン	1.2×10^{-3}	4.8	4.17×10^3
トリプシンー フィブリル	7.9×10^{-3}	19.1	2.43×10^3

shown in the next table. :

Substrate: Lipase 1 2-O-dilauryl-rac-glycero-3-glutaric acid REZORU fin ester Trypsin N-NEIRU-L-arginine-p-nitroanilide Example 42 Esterification in which the catalyst was carried out by fibril-lipase (composition of ethyl butylate)

Lipase was fixed on C8-alkyl fibril according to the procedure of an example 41. Lipase fibril was first washed by dioxane, and the mixture of dioxane and a heptane washed, and in order to distribute fibril in a heptane, finally it washed by the heptane. In order to compound ethyl butylate (food additive which gives the scent of a pineapple-banana), ethanol (0.4M) and butanoic acid (0.25M) were mixed in the heptane containing 6.2-micrometer fibril fixed lipase.

The reaction mixture was stirred at the room temperature. Yield was 60% in 7 hours. It was measured by measuring the ethanol concentration in a reaction mixture using the established approach. The reaction and the result are shown in drawing 8.

Example 43 Phenyl-alkyl On fibril Fixed phenyl-alkyl of alkaline phosphatase Manufacture of fibril It is phenyl-alkyl by the two different systems of reaction. Fibril was manufactured. The reaction 1 mixed 20mg carboxyl fibril (-COOH radical of about 0.014 millimols is contained) with DMAP (4-dimethylaminopyridine) of EDC of 4-phenyl butylamine of 0.28 millimols in 1.5ml DMF (N,N-dimethylformamide), and 0.28 millimol, and 0.28 millimols. The reaction 2 mixed 20mg carboxyl fibril with DOC (1, 3-dicyclohexylcarbodiimide) of KISANORU and 0.28 millimol, and DMAP of 0.28 millimols to 6-phenyl-1- of 0.28 millimols in 1.5ml DMF. The reaction was performed stirring at a room temperature overnight. And 3x25ml CH_2Cl_2 and 3x25ml MeOH, and 3x25ml dH_2O washed fibril violently.

Manufacture of the fibril which fixed alkyl nature phosphatase 0.5mg phenyl-alkyl Fibril was made to suspend in the tris of 0.05M of 400microl (pH8.6), and it ultrasonicated for 20 minutes. The solution (they are 1.67mg [ml] /and pH7.0 in the sodium phosphate buffer solution of 5mM) of the alkaline phosphatase of 150microl was added to these fibrils, mixture was rotated at the room temperature for 2 hours, and it stored at 4 degrees C overnight. And the sodium phosphate buffer solution of 5mM(s) of 600microl (pH7.1) washed fibril twice, and it was made to suspend in the same buffer solution of 200microl.

Quantum of the unique fixed alkaline phosphatase by measurement of catalytic activity Alkaline phosphatase emits the coloring compound which reacts with substrate p-nitrophenyl phosphate and absorbs 405nm light with

the absorbancy index of 18,200M-1cm-1. Assay for this reaction Buffer conditions were the tris of 10mM(s), ZnCl₂ of MgCl₂ 2 and 0.1M of 1mM, and pH=8.4. A reaction is the stock solution (0.5M in 33% of DMSO in an assay buffer) of p-nitrophenyl phosphate of 5microl, and alkaline phosphatase of 13microg in a 1ml ASSE buffer in a 1ml shallow pot. It carried out by mixing fibril. Increment with an absorbance of 405nm It acted as the monitor with the time scan between parts. And enzyme activity (a part for muM/) was computed from initial inclination using absorbancy-index 18200M-1cm-1.

About the alkaline phosphatase which adsorbed on the phenyl fibril from a reaction 1, activity was a part for 6.95microM/per fibril of 13microg. About the alkaline phosphatase which adsorbed on the phenyl fibril from a reaction 2, activity was a part for 2.58microM/per fibril of 13microg. By *(ing) activity of the alkaline phosphatase of the known concentration measured as it is a part for 879.8microM/per alkaline phosphatase of 1microM under the same assay conditions, these results were converted per fibril 1g and into alkaline phosphatase [activity / micromole / (or 20mg) / 0.63 micromole (or 54mg) and / 0.23], respectively.

Example 44 Manufacture of the fibril which fixed the fixed lipase of the lipase to a phenyl alkyl fibril top 0.5mg phenyl-alkyl Fibril was made to suspend in the sodium phosphate buffer solution of 5mM(s) of 50microl (pH7.1), and it ultrasonicated for 20 minutes. The lipase solution (5 2.5 in the sodium phosphate buffer solution of mM mM(s), pH7.1) of 350microl was added to these fibrils, mixture was rotated at the room temperature for 5 hours, and it stored at 4 degrees C overnight. And the sodium phosphate buffer solution of 5mM(s) of 600microl (pH7.1) washed fibril 3 times, and it was made to suspend in the same buffer solution of 200microl.

Quantum of the unique fixed lipase by measurement of catalytic activity Lipase is a substrate 1 and 2-o. - It is a dilauryl-rac-glycero-3-glutaric-acid-REZORU fin. The coloring compound which reacts with ester (Boehringer Mannheim, 1179943), and absorbs 572nm light with the absorbancy index of 60,000M-1cm-1 is emitted. Assay for this reaction Buffer conditions were KH₂PO₄ of 0.1M, and pH=6.8. A reaction is the substrate stock solution (7.6mM(s) in 50% dioxane in Thesit) of 5microl, and alkaline phosphatase of 13microg in a 1ml ASSE buffer in a 1ml shallow pot. It carried out by mixing fibril. It acted as the monitor of the increment with an absorbance of 572nm with the time scan over for 10 minutes. And enzyme activity (a part for muM/) was computed from initial inclination using absorbancy-index 60,000M-1cm-1.

About the lipase by which it adsorbed on the phenyl fibril from the reaction I of an example 43, activity was a part for 0.078microM/per fibril of 13microg. About the lipase by which it adsorbed on the phenyl fibril from the reaction 2 of an example 43, activity was a part for 0.054microM/per fibril of 13microg. By *(ing) activity of the lipase of the known concentration measured as it is a part for 1.3microM/per alkaline phosphatase of 1microM under the same assay conditions, these results were converted per fibril 1g and into lipase [activity / micromole / (or 396mg) / 4.7 micromole (or 564mg) and / 3.3], respectively.

Example 45 On amino alkyl qualification fibril Horseradish Manufacture of the fibril (carboxyl fibril) organic-functions-ized with the fixed carboxylic acid of a peroxidase (HRP) It moved to the reaction flask which slurred by mixing 10.0g graph eight nature fibril by the spatula in the concentrated sulfuric acid of 450mL(s), and was equipped with input/tap hole, and the overhead location agitator. NaClO₃ with an amount [of loading] of 8.68g was added little by little over 24 hours under the argon style of ***** at the room temperature, stirring. The sweep of the chlorine steam generated in all the processes of an experiment was carried out from the reactor, and it was driven in into the NaOH water-solution trap. At the last of an experiment, the vacuum filtration was poured and carried out on the ice which broke the fibril slurry. and a filter -- it washed, having moved the cake to the Soxhlet extraction thimble, and exchanging for new water every several hours by deionized water in a Soxhlet extractor. Washing was continued until it stopped having changed pH of water, when the sample of fibril was added to new deionized water. And filtration recovered cull PEKISHIRU-ized fibril and it dried at 100 degrees C by 5" vacuum overnight. Yield was 10.0g.

Manufacture of the fibril which fixed HRP The amino fibril (1.2mg) manufactured from 1 and 6-diaminohexan using the approach of an example 27 was added to the conjugate buffer (0.1M NaHCO₃, 0.9% NaCl, pH9.5), and this suspended solid was ultrasonicated for 20 minutes. And the conjugate buffer washed fibril twice in Eppendorf tubing, and it was made to suspend in the conjugate buffer of 400microL. 50microL aliquot (0.14mg fibril) of a suspended solid was mixed with the 4.0mg activation HRP (a pierced earring, IL state Rockford **) dissolved into the deionized water of 50microL, and the obtained suspended solid was rotated at 4 degrees C overnight.

:conjugate buffer which washed the fibril by which conjugate was carried out in HRP on large-scale with the

combination of the following solution in the Eppendorf centrifuging tube, the washing buffer solution (KH_2PO_4 of 20mM, 0.45% NaCl, pH6.2), the washing buffer solution containing 0.03 - 0.1% of triton X-100, and the washing buffer solution containing 50% of ethylene glycol. When the same MANIPURESHON including Activation HRP was carried out with plane (formation of unguided object) fibril as contrast, it was shown that association of HRP to amino fibril was actually unique covalent bond.

Quantum of the unique immobilization HRP by measurement of catalytic activity Large-scale washing removed most enzymes which carried out un-unique association. The fixed activity HRP was quantified by the turnover of a hydrogen peroxide, and the quality 2 of a coloring matter germ and the substrate which uses 2'-AJINO-screw (3-ethyl bends thiazoline-6-sulfonic acid) 2 ammonium salt (ABTS). MONI [whenever / catalytic activity / of HRP / spectrometry] in 414nm using the hydrogen peroxide of 100microM, and ABTS of 30microM as a substrate. The whole quantity of the enzyme combined with amino fibril in these preliminary researches was HRP of 0.0230micromol per fibril 1g. Compared with this, HRP of 0.0048micromol per fibril 1g combined contrast (plane fibril) with non-****. When it subtracted, the amount of HRP (unique association was carried out) was 0.0182micromol per fibril 1g in covalent bond.

Example 46 On the fibril which supports the fixed enzyme inhibitor Alkaline phosphatase (AP) and beta-galactosidase (betaG) Manufacture of the separation alkaline phosphatase inhibitor fibril by affinity chromatography Manufacture of the fibril embellished with AP-inhibitor was based on Brenner's and others (Brenne) approach (Brenna et al., (1975), Biochem.J., 151:291-296).

Carboxylation fibril was used, and as indicated in the above-mentioned example 50, NHS ester fibril was manufactured. The acetone of 4mL(s) was made to suspend NHS ester fibril (114mg), and (based on presumption with the NHS ester of 0.7meq(s) per fibril 1g) 10Eq tyramine (tyramine) was added. Desiccation triethylamine (10Eq) was added and mixture was stirred at the room temperature for 3 hours. With the acetone, deionized water washed CHIRAMI nil fibril on a large scale from it first under the vacuum in the filtration funnel of sintered glass.

4 -(p-amino phenylazo)- Phenylarsonic acid (66mg) was made to suspend in 1-N HCl of 4mL(s). The suspended solid was cooled at 4 degrees C, and it mixed with NaNO_2 of 0.5M of 0.36mL(s) slowly. Arsonic acid / NaNO_2 mixture was added to the CHIRAMI nil fibril suspended in NaCO_3 (pH10.0) of 0.1M of 10mL after 15 minutes. The reaction mixture (pH-10) was stirred at 4 degrees C overnight. And fibril was processed by continuation washing by water until the guanidine hydrochloride of Na_2CO_3 3 (pH10.0) and 8M of 0.1M, NaOH of 25mM, and effluent became transparency. The Galbraith lab (the State knock building of TN) performed element absorption spectrometry about the arsenic in AP inhibitor fibril. As for AP inhibitor fibril containing the side chain containing arsenic 1 atom, it became clear by atomic absorption analysis that the content of a certain arsenic was 0.4%. This means that about 10% of the initial COOH radical presumed was converted into AP inhibitor in this multistage story composition. If based on the surface area of fibril, this means what one inhibitor molecule (enzyme joint site) probably exists for every 500 square angstrom of surface areas.

Manufacture of beta-galactosidase inhibitor fibril p-amino-phenyl-beta-D-thio galactosidase (TPEG) induction fibril was manufactured based on Ullman's approach (Ullman, Gene (1984), 29:27-31). TPEG of 2.24mg ** was added to the 8mg cull BOKIRU-ized fibril in the deionized water of 0.2mL. It is HCl of 0.1M about pH of suspension, and is 4.

It adjusted to 0 and 15mg EDAC was added. With pH4.0, mixture was stirred at the room temperature for 3 hours. The reaction was suspended according to the rapid centrifugal separation in the inside of Eppendorf tubing, and the liquid was removed. The re-suspension and centrifugal separation to the inside of deionized water washed beta-galactosidase inhibitor fibril 5 times.

Affinity chromatography alkaline phosphatase (AP), (the sigma chemical company (Sigma Chemical Co.) from Escherichia coli (E. Coli, Type III) and MO state St. Louis), and beta-galactosidase (betaG) (from Escherichia coli (E. Coli) to rib OKEMU (Calbiochem))

The mixture of CA state RAJORA is Eppendorf. In the micro centrifuging tube, it was separated by batch relation on either AP inhibitor fibril or betaG inhibitor fibril. loading which contains both AP (generally about 10 units) and betaG (generally about 280 units) for affinity separation solution 1.0mL of a buffer (20mM tris, MgCl of 10mM, NaCl of 1.6M, the cysteine of 10mM, pH7.4) -- AP of 0.8-11. . 0 mg, or betaG -- it added to one of inhibitor fibrils. The obtained suspended solid was stirred quietly and it was made to rotate at a room

temperature for 2 hours. After enzyme association, fibril is settled according to easy centrifugal separation with a desk centrifugal separation vessel, and the liquid phase containing an uncombined enzyme is pulled out, and it sets for the reason of enzyme assay. Loading Washing by the buffer (7x1.0mL)

It comes **, buffer addition, and among quiet, and mixes, and they are the hold for 15 minutes, easy centrifugal separation, and Pasteur. The repeat of the solvent recovery by the pipet performed. They are betaG inhibitor fibril (the sodium borate of 100mM, the cysteine of 10mM, the cysteine of 10mM, pH10.0), or AP inhibitor fibril (NaHPO₄ of 40mM, tris of 10mM, MgCl₂ 2 and 0 of 1.0mM) about the MANIPURESHON same after 7 times washing.

It carried out repeatedly with ZnCl₂ of 1mM, and the suitable elution buffer solution for pH 8.4 either (5x1.0mL).

All fractionation (an uncombined enzyme, a penetrant remover, and eluate) was authorized about the activity of AP and betaG both. Alkaline phosphatase activity was measured by supervising the hydrolysis rate of the p-nitrolycerine-phenyl phosphate (PNPP) of 500microM by spectrometry in 410nm (deltaepsilon=18,000M⁻¹cm⁻¹). Alkaline phosphatase activity measurement was performed in 10mM tris, MgCl₂ of 1.0mM and ZnCl₂ of 0.1mM(s), and pH8.4**. The beta-galactosidase was authorized by supervising the capacity of the enzyme which hydrolyzes 2-nitrolycerine-GARAKUTO-beta-D-pyranoside (ONPG) by spectrometry. The initial velocity of the hydrolysis by which the catalyst was carried out by the beta-galactosidase of ONPG of 5.0mM(s) was measured by 405nm (deltaepsilon=3500M⁻¹cm⁻¹) in 10mM tris, NaCl of MgCl₂ 2 and 1.6M of 10mM, the cysteine of 10mM, and pH7.4.

AP inhibitor fibril and betaG inhibitor fibril -- either added the mixture of AP and betaG. In order to make measurement of unique joint capacity easy, the concentration of an additive enzyme was in the excess with big solid state inhibitor concentration. In AP inhibitor fibril, AP of g per 0.550micromol of fibril joined together (un-unique association of betaG is g per 0.020micromol of fibril to this). In betaG inhibitor fibril, capacity was measured as it is betaG of g per 0.093micromol of fibril (un-unique association of AP is g per 0.012micromol of fibril to this). The result of an affinity chromatography experiment is shown in drawing 9 and drawing 10. AP inhibitor fibril did not combine betaG with the forge fire which can be evaluated, however especially when the phosphate of 40mM(s) and competitive inhibitor ** were added by the buffer, elution of this which combined AP was carried out (drawing 9). The fibril guided by betaG did not combine a substantial quantity of AP, however in order to weaken the tie-up of enzyme inhibitor, especially when pH was made high, elution of this which combined betaG was carried out (drawing 10). These results show that covalent bond of the inhibitor was well carried out to fibril, that the fixed inhibitor could approach the big molecule, that the inhibitor was available for unique enzyme association, and that an enzyme continues being activity when it elutes especially. It seems that there is continuation extraction of betaG from betaG inhibitor fibril in drawing 10. Seemingly, this will be rather rather than the fault of fibril as a result of a natural weak enzyme-inhibitor affinity, since the phenomenon same in drawing 9 by AP inhibitor fibril is not seen.

2. Organic-functions-ized nanotube as solid-state base material of antibody It became clear that an antibody's being fixable on the organic-functions-ized nanotube and this antibody nanotube had the high surface area per those weight, electrical conductivity, and a chemical and peculiar advantage for much application with physical stability. For example, an antibody nanotube can be used as an affinity reagent of **** of molecule separation. The antibody nanotube is effective again including immunoassay for medical examination like ECL system immunoassay also because of analytic application.

an antibody -- covalent bond or a noncovalent bond -- either can be fixed.

Covalent-bond immobilization was returned with the reactant amination of the carboxylate radical of; antibody performed by various approaches, NHS ester activation (see the above-mentioned example 27) of carboxylation fibril and thiol-ized fibril, or maleimide fibril, or a reaction (an above-mentioned example 23 and 25 reference) with the antibody by which maleimide qualification was carried out is mentioned.

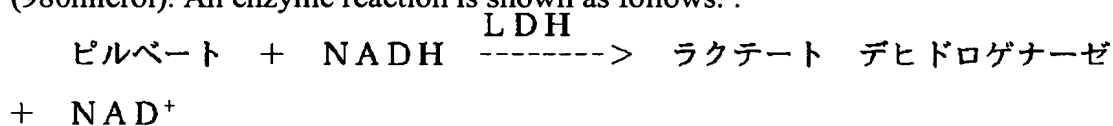
It depends for the best approach for making an antibody adhere to a nanotube on the application for which they should be used. It is because it is thought for separation that a desirable approach is adsorption of a noncovalent bond because is the highest in order for the capacity of protein association to be this approach. for the approach of including ECL for which the electrical conductivity of fibril may be important, the covalent-bond approach is desirable -- will come out and I will be (an alkyl addition product is weak -- electric -- it is expectable to be a conductor and to insulate fibril). Because reducibility amination is seemingly the best approach for carrying out

covalent bond of the antibody to fibril, it is because orientation of the antibody is correctly carried out so that those joint sites may turn to an outside (far from fibril) by using this approach.

3. Addition of NAD⁺ to organic-functions-ized nanotube Cofactor like NAD⁺ is added to the solid-state base material for the living body unique affinity chromatography of the protein combined with enzyme cofactor, and can be used as a solid-state base material. For example, NAD⁺ fibril is used as a solid-state base material for purification of a dehydrogenase. The main advantages which use fibril are the surface areas which can approach those big amounts. The affinity matrix which has high surface area is desirable because [potential capacity] it is high. Whichever is sufficient in whether fibril is a loose distributed object or to be fixed a column or in the shape of a mat.

Example 47 Dehydrogenase on NAD⁺ fibril Manufacture of the separation NAD⁺ fibril by affinity chromatography Fibril was oxidized in order to introduce hydroxyl according to examples 14 and 15. To the suspended solid of the fibril (31mg) in a sodium bicarbonate solution (3ml, 0.2M, pH8.6), it is N6-[amino hexyl] carbamoyl methyl-nicotinamide. Adenine Dinucleotide The inside of acquisition and a 5ml sodium bicarbonate solution was added from the lithium salt solution (25mg) sigma. The reaction mixture was stirred at the room temperature overnight. Water, N.N-dimethylformamide, and a methanol washed product fibril on a large scale. As for ultimate analysis data, product fibril showed the NAD molecule of g per 130 millimols of fibril, and that the NAD molecule of g per 147 millimols of fibril was contained by phosphorus analysis by nitrogen analysis. The NAD⁺ analog of others which have the linker which carries out an end halt in the amino group can be used for manufacturing NAD⁺ fibril.

Affinity separation NAD⁺ fixed fibril (0.26mg) and plane fibril (0.37mg) were ultrasonicated for 30 minutes at 40 degrees C together with 0.1% of polyethylene glycol (PEG, MW1000) in sodium phosphate (1ml, 0.1M, pH7.1), and it incubated for 30 minutes at 40 degrees C. Centrifugal separation of the fibril suspended solid was carried out, and the supernatant was removed. About fibril, it is L-lactate. It incubated for 90 minutes at 4 degrees C together with the mixture in 0.1% of PEG (1000) sodium phosphate buffer solution (the ratio of 250microl, an LDH solution, and 0.1% of PEG buffer solution is 1:1) of a dehydrogenase (LDH). And mixture was equilibrated for 30 minutes at the room temperature. After the incubation with LDH of fibril, 0.1% of PEG (1000) in the sodium phosphate buffer solution washed fibril (5x1000microl), and the rotation for 15 minutes was adopted for every washing. Elution of LDH was carried out by NaDH of 5mM(s) in 0.1% of PEG (1000) sodium phosphate buffer solution (5mM, 3x1000microl). During each elution washing, fibril was rotated for 15 minutes. The LDH activity in an eluate was authorized by measuring the absorbance change in 340nm under reduction of a pill pinic acid salt. Assay mixture contained 0.1% of PEG (1000), the pyruvate (3.3micro, 100mM stock solution), and each elution fraction (16.7microl) in the sodium phosphate buffer solution (980microl). An enzyme reaction is shown as follows. :



For a result, the capacity of LDH on NAD⁺ fixed fibril is 484 nanomoles per fibril, and it was shown that the capacity of LDH on plane fibril (contrast) is 3.68 nanomoles per fibril. Un-unique association of LDH was 5.6%.

4. As Solid-state Base Material for Protein Synthesis Organic-Functions-Ized Nanotube Example 48 As a solid-state base material for protein synthesis Four in the organic-functions-ized nanotube amino fibril (400mg) and a methylene chloride (20ml) -(hydroxymethyl)- Phenoxyacetic acid suspended solid (255mg) The 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC, 268mg, 1.40 millimol) and the 1-hydroxy benzotriazol hydrate (HOBt, 189mg, 1.4 millimol) were added to mixture with 1.4 millimols. The reaction mixture was stirred at the room temperature under argon gas overnight. A methylene chloride, a methanol, and water washed product fibril on a grand scale, and it dried under the vacuum, and fibril was obtained. N-(9-FUNIORE nil methoxycarbonyl)-O-butyl-L-serine (215mg, 0.56 millimol), 1, and 3-dicyclohexylcarbodiimide (DCC, 115mg, 0.56 millimol) and 4-dimethylaminopyridine (DMAP, 3.4mg, 0.028 millimol) were added to the suspended solid of the fibril in N.N-dimethylformamide (DMF, 2ml) and a methylene chloride (8ml). The reaction mixture was stirred at the room temperature overnight, and product fibril was washed by 20% piperidine in DMF (5x40ml, each time 1 minute immersion). And DMF, water, the sodium hydroxide (1N), the methanol, and the

methylene chloride washed product fibril on a grand scale. Product Fibril-handle-serine (O+)-COOH (a ninhydrin trial is +)

The vacuum drying was carried out. For dipeptide composition, the arginine was added using the same procedure. As for the amino-acid-analysis data of a fibril-handle serine (O+)-arginine (NE-2, 2, 5 and 7, 8-pentamethyl chroman-6-sulfonyl), it is shown that it contains the serine which is the g per 6.5micro mol of fibril, and the arginine of the g per 7.6micro mol of fibril. Every peptide of other can be manufactured by the same approach.

5. the biotin-ized fibril -- and -- Biotin-ized alkyl fibril a fibril front face -- biotin-izing (biotinylation) -- or it can organic-functions-ize by alkylation and biotin-ization. The fibril containing this qualification is all streptoavidin like the streptoavidin bead from it, or a streptoavidin enzyme. A KONJU gated image substrate is combinable.

Fibril presents the big surface area, therefore the big advantage as a solid support. The bead which can also be built to ferromagnetism is very effective in separation assay. The biotin-ized fibril explained here combines the advantage of both fibril and a bead. Although biotin-ized alkyl fibril is expansion of the same concept, the protein absorption property of an addition of alkyl fibril is shown.

The fibril covered with streptoavidin - and biotin - is applicable to medical examination, and can be used as a capture agent for the assays like electrochemical luminescence assay.

The new description of this invention is to create bifunctional fibril combining two solid supports to one fibril. Furthermore, the indicated approach increases the surface area for a bead, and strengthens magnetization of fibril.

Example 49 Manufacture of biotin-ized fibril Biotin-ized fibril was manufactured by mixing the NHS ester long-chain biotin (amino fibril 2.4mg manufactured as indicated in the example 16, and 9mg) in the NaHCO₃ buffer solution of 0.2M of pH of 8.15. It was made to rotate at a room temperature for 4 hours, and the same buffer solution washed mixture twice.

Example 50 Manufacture of biotin-ized alkyl fibril Biotin-ized alkyl fibril was manufactured by two staircase reactions. On the first stage story, 4.25mg bifunctional fibril (both amino and carboxyl are contained) and a 25mg NHS ester long-chain biotin were mixed. The vacuum drying of the fibril was washed and carried out. The second reaction was performed by mixing the biotin-ized 4mg bifunctional fibril with NH₂(CH₂)₇CH₃ of 10microl in 11mg an EDC (1-ethyl -3, 3-dimethylaminopropyl) carbodiimide, 7.5mg DMAP (4-dimethylaminopyridine), and 0.5ml DMF. Mixture was stirred at the room temperature overnight. A methylene chloride, a methanol, and deionized water washed the biotin-ized last alkyl fibril.

Example 51 Biotin-ized fibril as a solid-state base material of assay Biotin-ized fibril can be used for the assay which includes the format which needs the interaction of a streptoavidin-biotin or an avidin-biotin. Biotin-ized fibril was able to be further derivatized by streptoavidin. The biotin (example 50 reference) which carried out covalent bond to fibril was able to form the interaction of streptoavidin and a strong noncovalent bond. Probably, the streptoavidin combined with biotin-ized fibril almost certainly had the joint site which is not occupied [which can combine biotin-ized another reagent], since streptoavidin was tetramer nature protein which has 4Eq of joint sites. Therefore, probably, biotin-ized fibril was converted into streptoavidin covering fibril.

Many assays which can be performed using this fibril-biotin-streptoavidin (FBS) base material exist. for example, the biotin-ized anti-ANARAITO antibody was able to be captured on the FBS base material (after the front stirrup by which an antibody is compound-ized to ANARAITO (analyte) was carried out -- either). The biotin-ized anti-ANARAITO antibody is fully established. as this assay -- Seki -- the contention assay with which prudent ANARAITO competes with indicator ANARAITO about association to an anti-ANARAITO antibody is included. From the antibody solidified by fibril, isolation (uncombined) ANARAITO and isolation (uncombined) indicator ANARAITO can be washed. It depends for a washing process on the fibril which includes **** in centrifugal separation, filtration, or suction to a magnet and which is usually physically separated from a solution phase by the technique of operation.

Besides contention assay, sandwiches mold immunoassay has carried out on the FBS base material. Sandwiches immunoassay is fully known for the field of medical examination. ; "Lord" antibody is captured on a solid-state front face by carrying out an indicator by the biotin by this assay including ANARAITO combined with coincidence by two antibodies, and it is "the second". [of ** the first] [the]

Although an antibody is not captured by the solid-state front face, the indicator of it is carried out by the receptor radical. this sandwiches assay is captured like a publication of fibril in the preceding paragraph by it as a solid-state capture base material using fibril -- it was able to come out and carry out.

Therefore, the main antibody which fibril was already combined with the biotin by covalent bond, and the biotin was combined with streptoavidin in this assay, and changed streptoavidin, was combined with the biotin-ized main antibody, and was biotin-ized will be combined with ANARAITO (if it exists), it was combined with the second antibody by which the indicator was carried out, and there will be ANARAITO.

Similarly, DNA probe assay was able to be carried out using the FBS base material. The biotin-ized single stranded DNA can be combined with a FBS base material, and contention hybridization can take place between a complementarity single strand ANARAITO DNA molecule and a complementarity indicator oligonucleotide. It can be used for another biotin-ized fibril of a type, biotin-ized alkylation fibril, *****, and DNA probe assay. When a biotin carries out covalent-bond *Perilla frutescens* (L.) Britton var. *crispa* (Thunb.) Decne. to the functional group of one type and an alkyl chain carries out covalent bond to the functional group of another type, bifunctional fibril can be embellished as indicated by the example 51. The obtained fibril which is alkylated and is biotin-ized attains to a unique meeting with streptoavidin or avidin (alkyl chain), and is applicable to proteinic adsorption at both (biotin).

Even if alkyl fibril combined with other solid-state base materials, for example, a streptoavidin covering magnetism bead, it has been used. One advantage of the fibril on this bead is having far high surface area (per unit weight). Therefore, if fibril can adhere to the outside surface of a magnetic bead, this will improve the surface area, therefore joint capacity of a bead dramatically. It is possible that alkylation biotin-ized fibril produces the fibril covering bead which can be mixed with a streptoavidin covering bead, consequently follows the interaction which is the streptoavidin (bead)-biotin (fibril) of a high affinity, and has very high surface area. Since alkyl fibril combined protein by adsorption, the fibril covering bead was able to be further derivatized by the adsorbed protein which includes streptoavidin and an antibody. The fibril covered with streptoavidin or an antibody is applicable to immunoassay and DNA probe assay as above-mentioned. Therefore, the fibril covering bead was able to improve the property of a bead by increasing the surface area dramatically so that only few beads may be needed by giving the same result in the given assay.

6. Three-dimensional structure Oxidization fibril is distributed in an aquosity medium more easily than non-oxidizing fibril. The stable porous three-dimensional structure object which is at least in inside, thru/or has large pore (> 2nm pore) is very effective as a catalyst or a base material for chromatographies. Since fibril can be distributed on the individualized standard, the often distributed sample which is stabilized by the crosslinking bond makes possible here where this base material is constituted. It is because as for the organic-functions-ized fibril they are easily distributed in aquosity or a polar medium and a functional group offers a crosslinking bond point ideally because of this application. In addition, a functional group offers the point which supports a catalyst site or a chromatography site. The result of the last is the hard three-dimensional structure which can come to hand with a functionality site for the total surface area to support an activator.

The typical application for these base materials in a catalyst includes the use as a porous base material in the altitude of a metal catalyst built by sinking in, for example, noble-metals hydrogenation catalyst, and ** sake. Furthermore, the capacity to the base material through the functional group combined with whenever [very high pore / of the structure] which fixes a molecule-like catalyst as tie, stop and be alike makes it possible to perform a homogeneity reaction by the heterogeneous method. Then, in the continuation liquid phase similar to a homogeneity reactor, the molecule-like catalyst connected and stopped is essentially in a suspension condition, and enables use advantageous to selectivity and a rate along with a homogeneity reaction. However, if tied and stopped to the solid-state base material, in the case of an activator many, easy separation and recovery of very expensive catalyst ** will be enabled.

Hard structure also makes it possible henceforth to perform an asymmetric synthesis or a very difficult reaction like affinity chromatography by these stability by making the enantiomer catalyst or selectivity substrate for which are suitable adhere to a base material. METARO - The derivatization which lets a Pc or METARO-porphyrin complex pass expects further recovery of the ligand combined with the metal ion, and a certain molecule combined with a ligand through a second-grade induction object again. For example, the three-dimensional structure of the organic-functions-ized fibril is the part of an electrode or an electrode, and the electrochemical oxidation from Co (II) to Co (III) under existence of a nicotinic acid will generate Co(III)-

pyridyl complex of the non-instability which has a carboxylic acid as a suspension radical, when organic-functions-ization arises from adsorption of Co(II) Pc.

If association of a suitable antigen, an antibody, a catalyst nature antibody, or other site singularity trapping agents is not so, it will make possible preferential segregation (affinity chromatography) of the molecule which is very hard to attain. In order to remove an occluded substance, after washing an electrode, Co (III) complex containing a target molecule can be returned electrochemically, and instability Co (II) complexes can be collected. and the ligand on Co (II) containing a target molecule -- the mass action permutation of an instability Co (II) ligand -- recoverable -- it -- or [otherwise, / that execution is very difficult] -- or the molecule (for example, chiral drugs) attached highly
***** or recovery is performed.

It was thought that the pore inside the organic-functions-sized carbon fibril mat was not effective before as flow which is too small, and does not allow significant flow, therefore passes along an electrode. Moreover, the problem relevant to use of the particle-like carbon as an electrode material or other carbon system ingredients (for example, reticulated-sized amorphous carbon (Reticulated Vitreous Carbon) (RVC)) also existed. for example, a porous electrode material cannot be generated on that spot, but it is filled up with it very densely -- having -- ***** -- the opening and the slot were formed, and it was exposed to dimension instability between change of a solvent or flow conditions, and formation of a very thin electrode was impossible. This problem was solved when the organic-functions-sized carbon fibril was used as an electrode of a flow cell. Reforming of the organic-functions-sized carbon fibril which is used as an electrode of a flow cell can be carried out by the surface treatment by the electro activator. Or fibril carries out an operation of a catalyst or an electrode catalyst, reforming of it can be carried out also with the ingredient which is not the electro activity which serves to control the reaction or adsorption which the quality of a Flo secret intention does not desire. Such flow which lets an electrode pass is effective in an electro chromatography, the affinity chromatography modulated electrochemically, electro composition, or separation technology like the ion exchange chromatography modulated electrochemically.

They can be used also for the diagnostic equipment which separates and/or analyzes the matter caught on the carbon fibril mat.

The compound mat which consisted of the fibers or granular objects of carbon fibril and others which were organic-functions-sized can also be used. These fibers or a granular object can be added to a suspended solid, in order to change whenever [pore / of the last of a carbon fibril mat], or, electric conductivity.

Example 52 Iron phthalocyanine organic-functions-sized fibril Application as an electrode of a flow cell
Graphite nature fibril was reformed by making an iron (III) phthalocyanine-screw-pyridine (FePc-2Py) (Aldrich 41,016-0) adsorb. 0.403g fibril and 0.130g FePc-2Py are added to 150ml dehydrated ethanol, and it is 450W. Branson It processed with the probe ultrasonic device for 5 minutes. The obtained slurry was filtered and rinsed with the 0.45-micrometer MSI nylon filter by the 47mm Millipore film vacuum filter manifold, and it dried in vacuum oven 35 degrees C overnight. A final mass is 0.528g and it expressed substantial adsorption. The spectral analysis of filtrate explained FePc-2Py which remains.

5mg FePc-2Py qualification fibril was distributed with the ultrasonic device in 10ml deionized water. The distributed object was made to deposit on the network screen of the stainless steel of 200 meshes of one sheet (SS) held in the 25mm millipore filter manifold, and it dried at the room temperature. The diameter 0 of the fibril mat supported on SS screen

The 5 inches disk was cut off using arch punch.

An electrochemistry flow cell from the Sweeney (Swinney) type film filter holder of 13mm plastics It is the network (400 meshes) of the gold of a disk with a diameter of 13mm on the film base material. Ladd Industries is placed. And the screen It was constituted by making the platinum wire insulated with the Teflon (trademark) heat-shrinkable tubing sent through the wall of a filter holder for external connection as a working electrode of 3 electrode potentiostat circuit contact electrically. The golden network was fixed around the outside edge on that occasion using a small amount of epoxy. It connected with the platinum lead wire which put the piece of gold foil into the shape of a ring, and the part of the lower stream of a river of the bottom of a filter holder, and was insulated as a counterelectrode of 3 electrode potentiostat circuit for connection. The ring of a silver wire with a diameter of 0.5mm which oxidized electrochemically in HCl of 1M was put into the upper part of a filter holder with the lead insulated as a reference electrode for connection.

A disk with a diameter [of CN embellished with FePc-2Py] of 0.5 inches is put in into a flow cell, and it is EG&G. It connected with the suitable lead of PAR273 potentiostat. The flow cell was connected to the SAGE (Sage) SHIRINGU pump filled up with KCl of 0.1M in the 0.1M potassium phosphate buffer solution of pH7.0. The cyclic voltamogram (valve flow coefficient) was recorded under the no flow (quiescence) and the flow (a part for 0.4-mil/) with 20mv(s)/the electrical-potential-difference scan speed of a second (refer to drawing 6). Even if valve flow coefficient has a flow and there is not, it is almost the same, and the wave of two continuous reversible oxidation which is not contradictory to the front face containing FePc-2Py, and reduction was shown. It is proved [durability / of the redox peak under fluid flow conditions] that FePc-2Py's having joined to carbon fibril together strongly and iron phthalocyanine qualification fibril fully act as a flow through electrode material.

Another example of the three-dimensional structure is a fibril-ceramic ingredient.

Example 53 Manufacture of an alumina-fibril constituent (185-02-01) Altitude was made to distribute the fibril (185-01-02) which oxidized with the 1g nitric acid in 100 cc deionized water using U/S JISUINTE grader. The solution of 0.04-mol aluminum tributoxide which heated this fibril slurry at 90 degrees C, and dissolved into 20 cc propanol was added slowly. Reflux was continued for 4 hours, the condensator was removed after that, and alcohol was flown. The condensator was returned after 30 minutes and the slurry was flowed back at 100 degrees C overnight. The black sol which has a uniform appearance was obtained. This sol was cooled to the room temperature and the black gel which has a smooth front face after one week was formed. This gel was heated at 300 degrees C in air for 12 hours.

This alumina-fibril complex was examined by SEM. The microphotography on the front face of a crack showed homogeneity distribution of the fibril in gel.

Example 54 Manufacture of a silica-fibril constituent (173-85-03) Altitude was made to distribute the fibril (173-83-03) which oxidized with the 2g nitric acid in 200 cc ethanol using sonication. The solution of a 0.1-mol tetra-ethoxy silane which dissolved into 50 cc ethanol was added to this slurry at the room temperature, and three cc concentrated hydrochloric acid was added to it after that. This mixture was heated at 85 degrees C, and it maintained at that temperature, and capacity was decreased to 100 cc. Mixture was cooled and left and black solid-state gel was generated. This gel was heated at 300 degrees C in air.

This silica-fibril complex was examined by SEM. The microphotography on the front face of a crack showed homogeneity distribution of the fibril in gel.

Even if it has other ceramics, for example, zirconia, titanias, rare earth oxides, and ternary acid ghosts, a similar preparation object can be manufactured.

7. Installation of graphite nature nanotube to polymer bead top It has the application of a large number in the thing and ***** which were manufactured by a polymer bead, especially the magnetic polymer bead containing 3OFe4 core, for example, dynal, (Dynal), and others. However, these beads are troubled to have low surface area compared with an available thing from a nanotube. The organic-functions-sized fibril can be introduced on the front face of a bead, and it makes it possible to use a polymer / fibril complex as a solid-state base material of separation or an analysis application (for example, immobilization of electrochemical luminescence assay and an enzyme).

Example 55 Adhesion of organic-functions-sized fibril in an organic-functions-sized bead DINA bead M-450 (30mg/(ml)) with a magnetism of 7.5mg by which tosyl activation was carried out

a bead (dynal, Oslo ** of way Norian) -- the sodium phosphate buffer solution of 0.1M, and pH7.5 -- it came out and washed 3 times. And the 0.9ml sodium phosphate buffer solution of 0.1M and pH8.4 were applied to the bead, and 0.1ml amine fibril was added. Mixture was rotated at the room temperature for 16 to 24 hours. When it observed with the microphotography, the lump of fibril which has a bead on the front face of fibril was clear.

obtaining as illustrated by the above explanation and the example, this invention has various formulas with a large nanotube, and the application in the application.

the vocabulary and expression which are used eliminate a certain equal object of the description which is used as an expression of description, is not used as an expression of limitation, and is shown as the part and described in use of this vocabulary or an expression -- not meaning -- various modification within the limits of the thought of this invention -- possible ***** -- things are recognized.

[Translation done.]

* NOTICES *

JPO and NCIPi are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.**** shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

DRAWINGS

[Drawing 1]

917-101 GFへのBSAの結合

上澄み中のBSAの測定 (対グラフアイトフィブリル)
OD 562nm, (uBSA 測定)

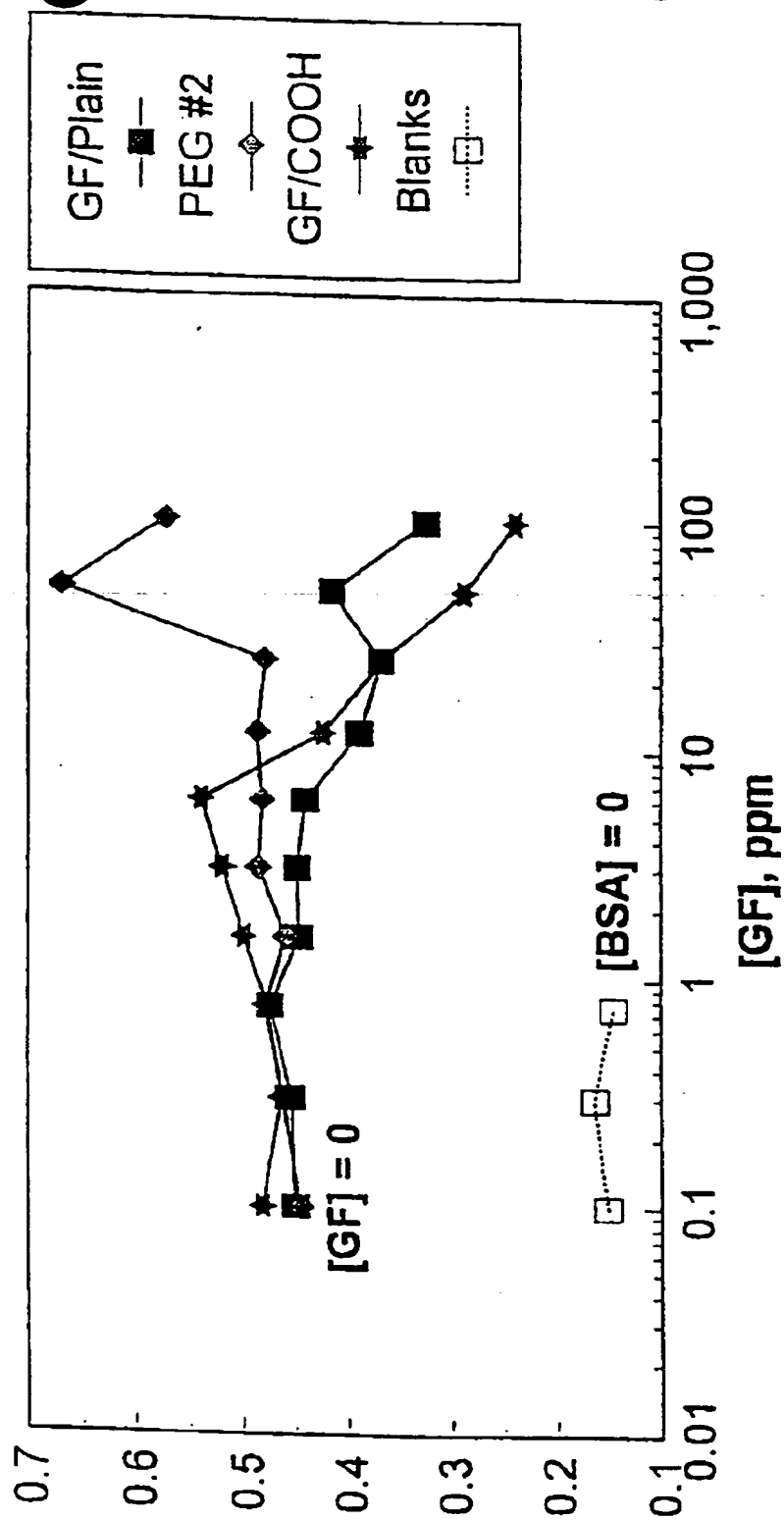


Fig. 1

[Drawing 2]

917-105 GFへの β -ラクトグロブリンの結合

上澄み中の β -ラクトグロブリンの測定 (対GF)

OD 562nm (uBCA 測定)

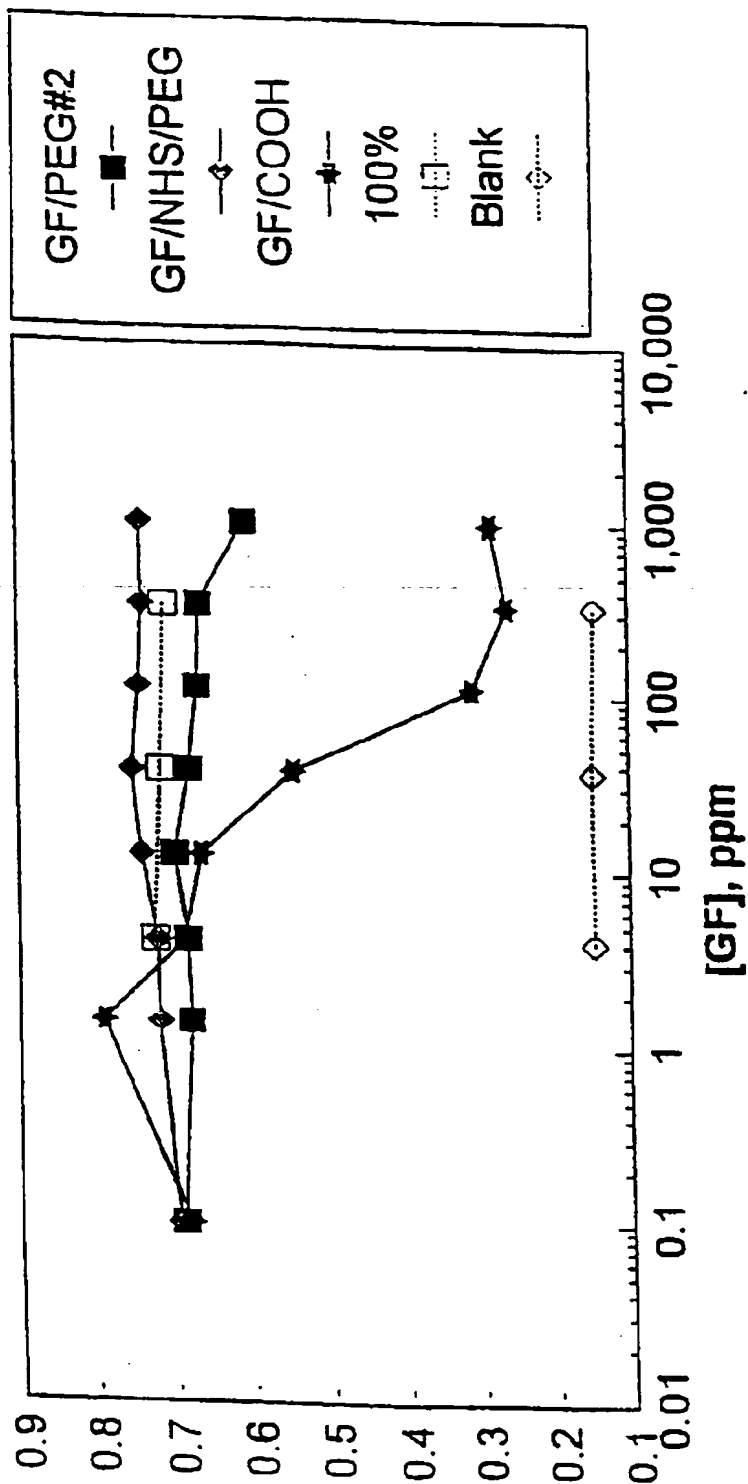


Fig. 2

[Drawing 3]

第三アミノフィリルカルム上でのウシ血清アルブミンの溶出プロフィール

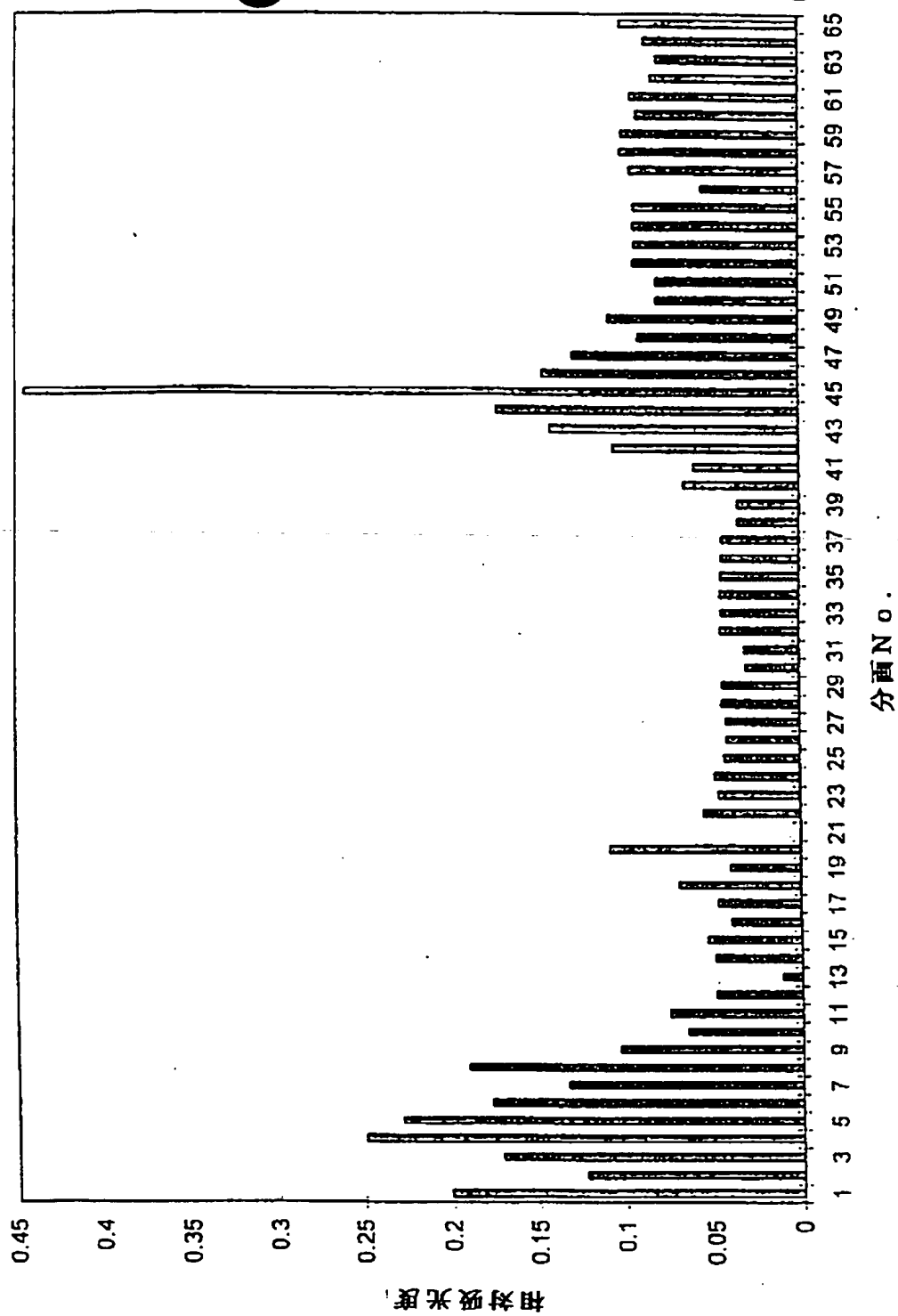


Fig. 3

[Drawing 4]

第四アミノプリアリルカラム上でのウシ血清アルブミンの溶出プロフィール

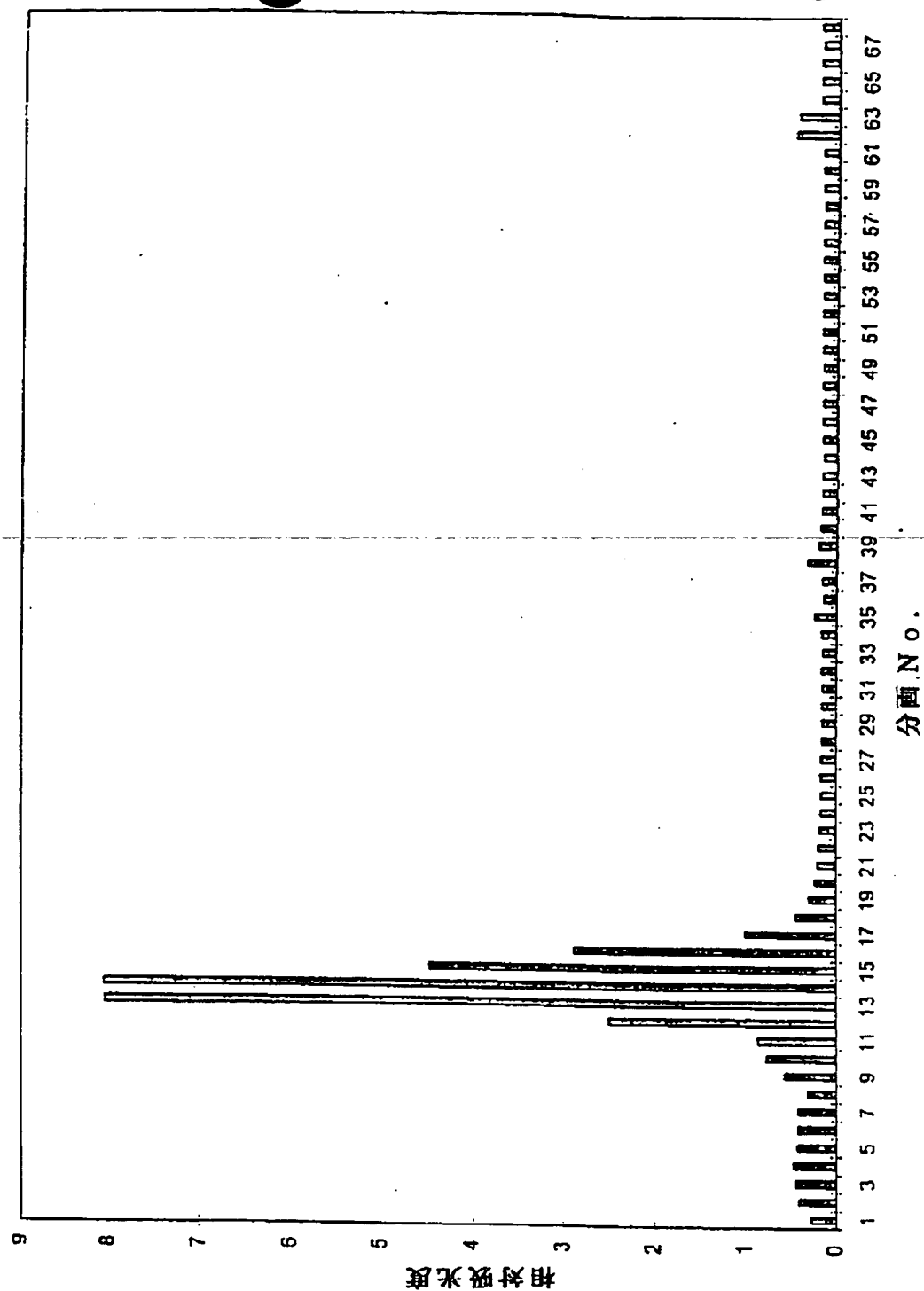


Fig. 4

[Drawing 5]

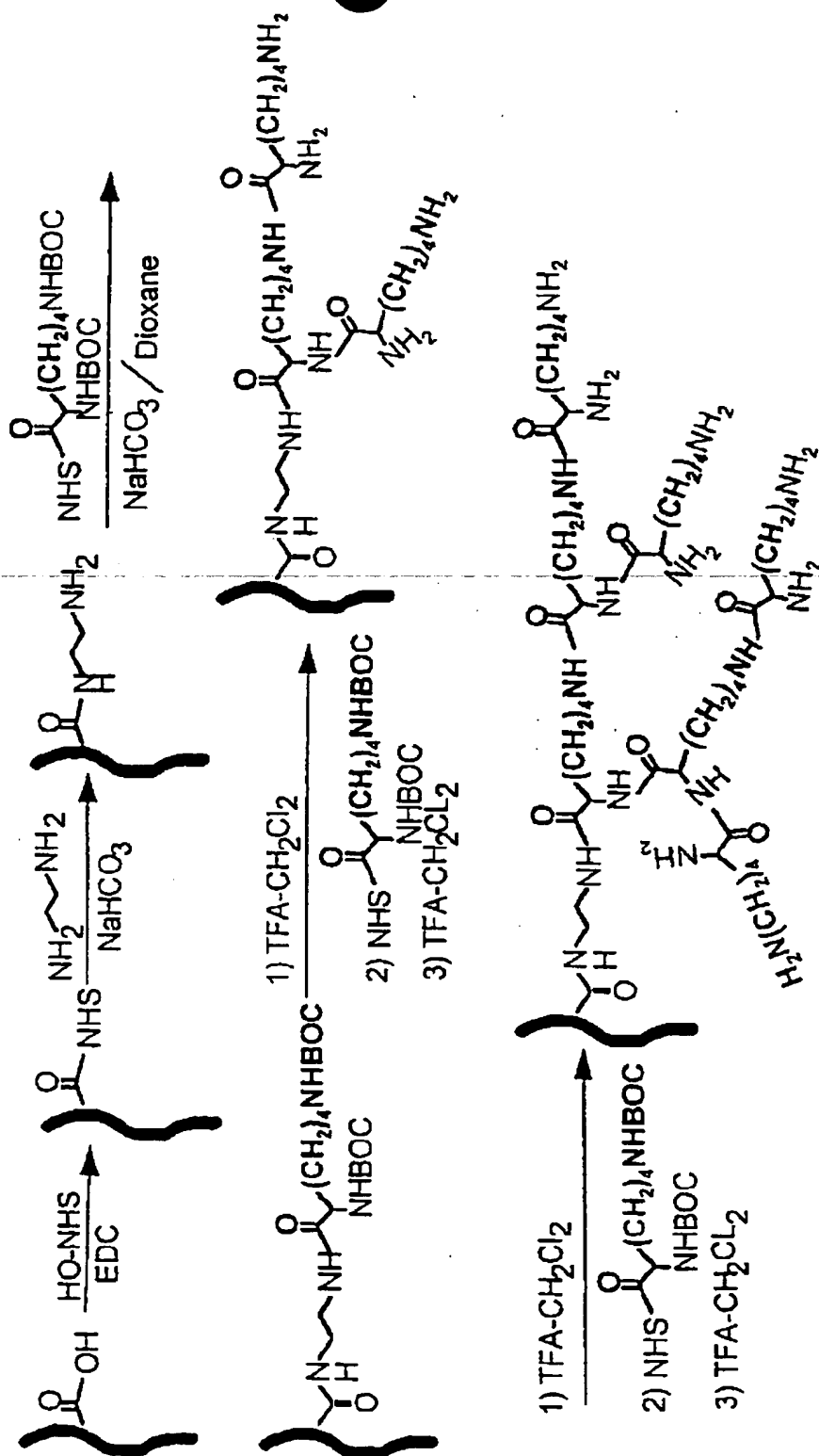


Fig. 5

[Drawing 6]

フローセルにおけるFePc修飾CN電極

[Drawing 7]

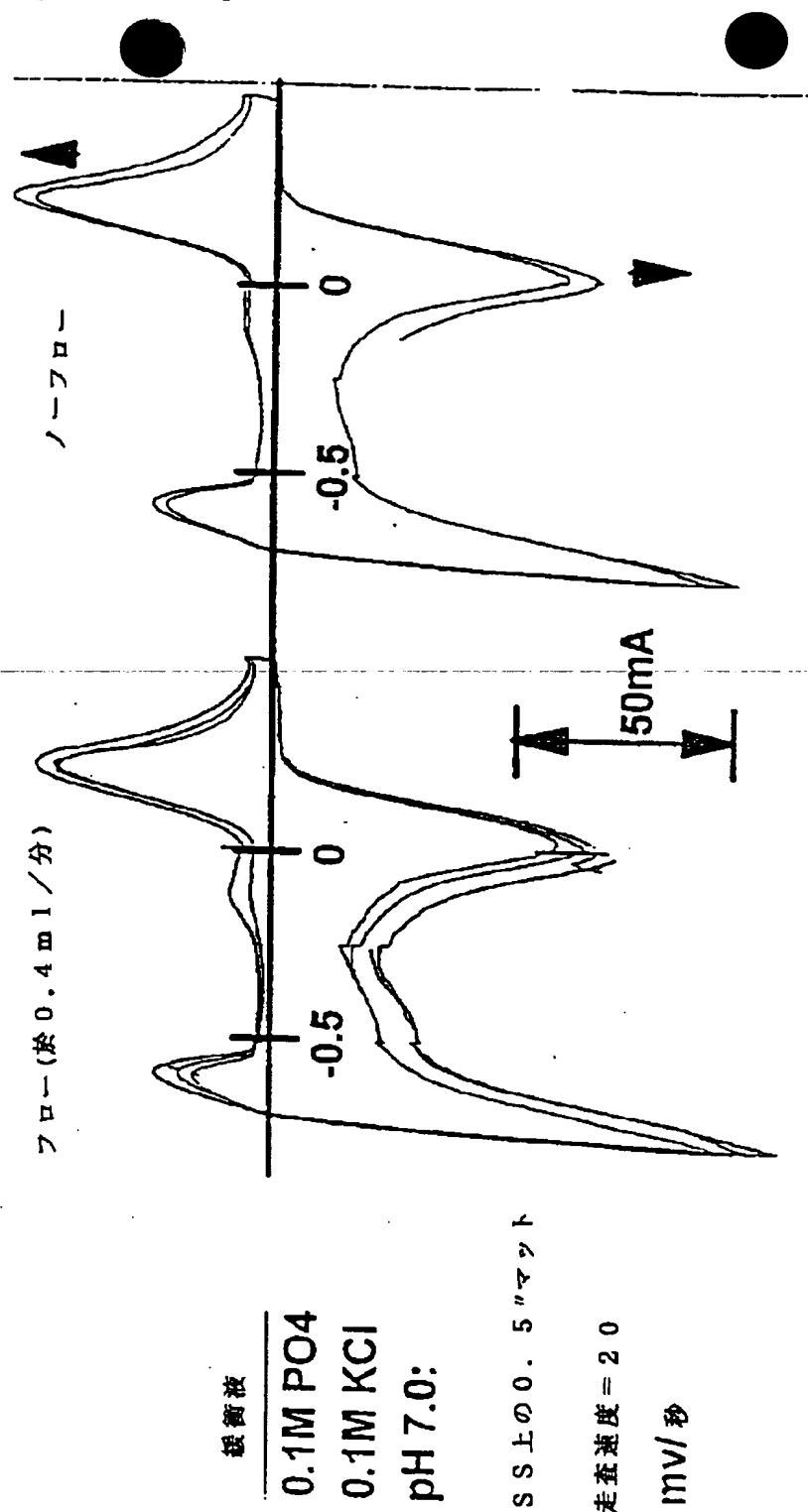


Fig. 6

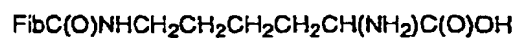
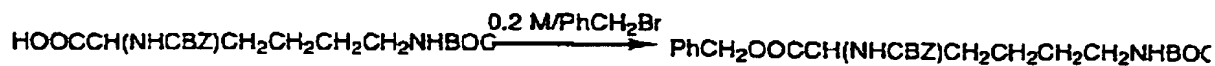
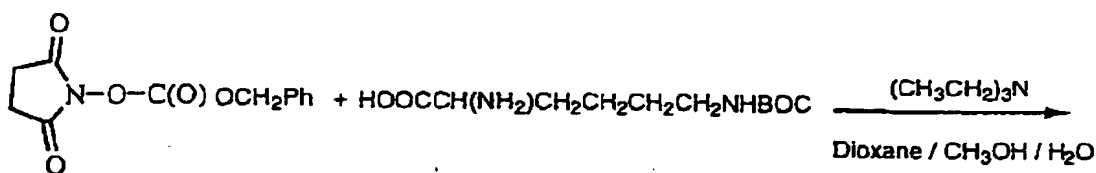


Fig. 7

[Drawing 8]

フィブリルーパーゼによって触媒されたエステル化

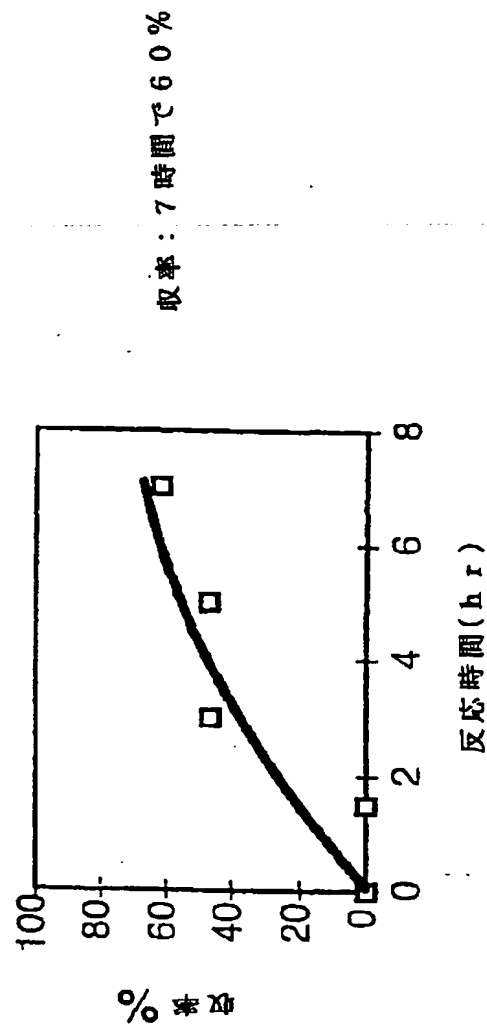
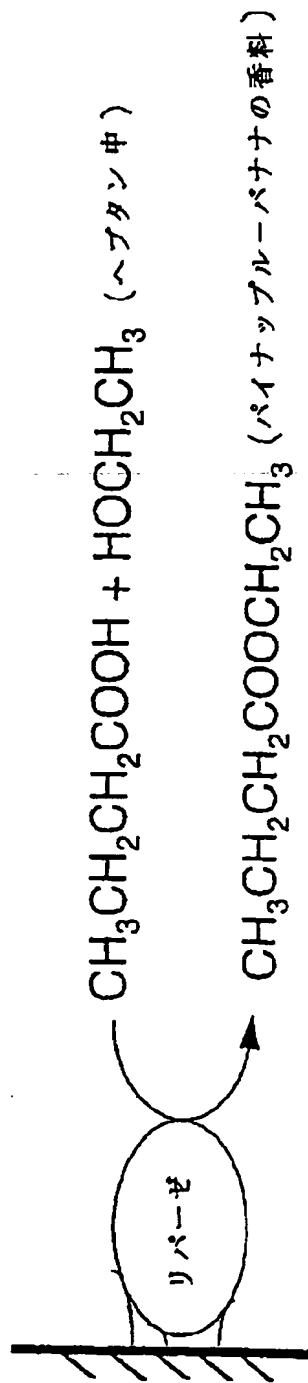


Fig. 8

[Drawing 9]

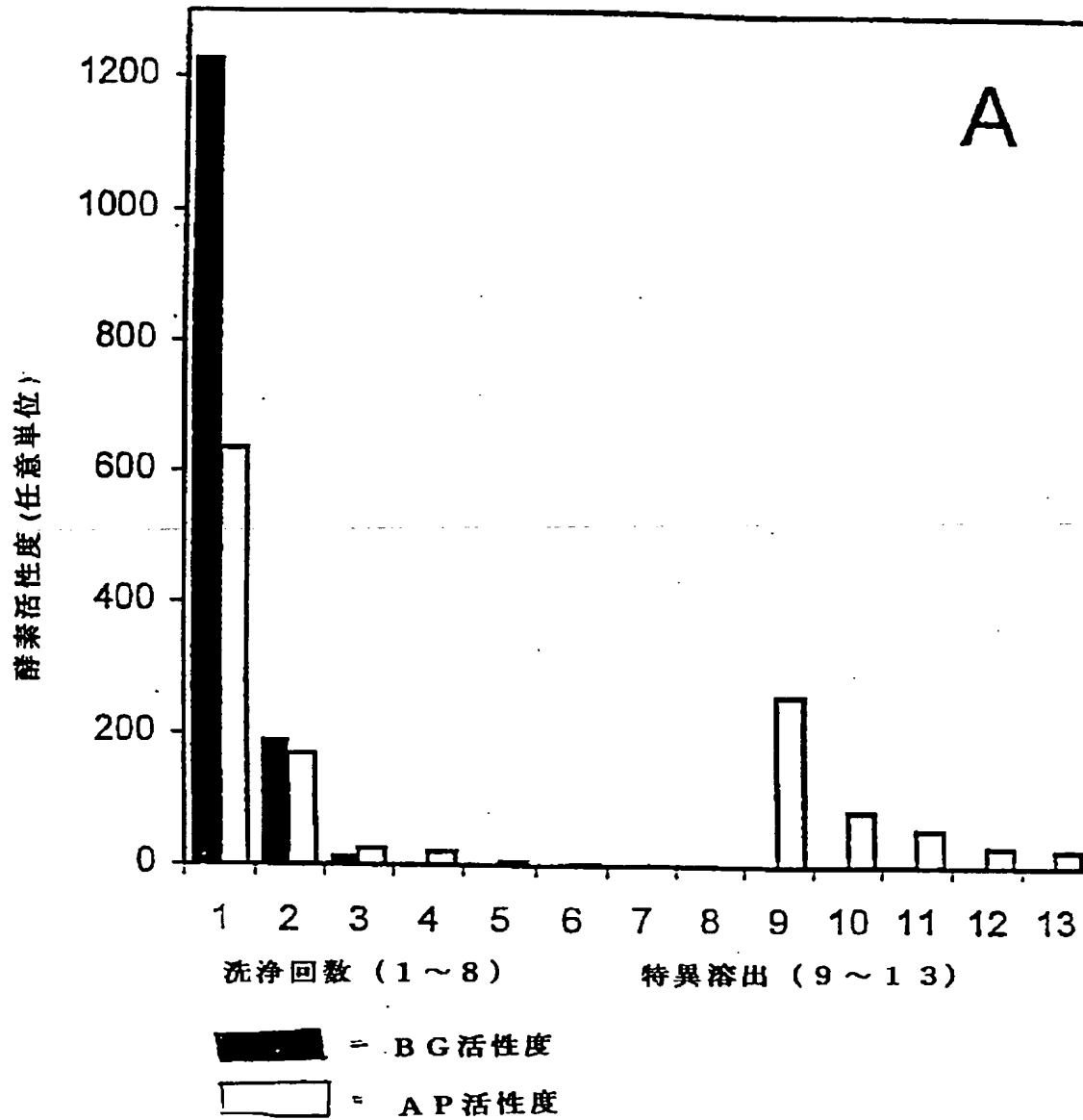


Fig. 9

[Drawing 10]

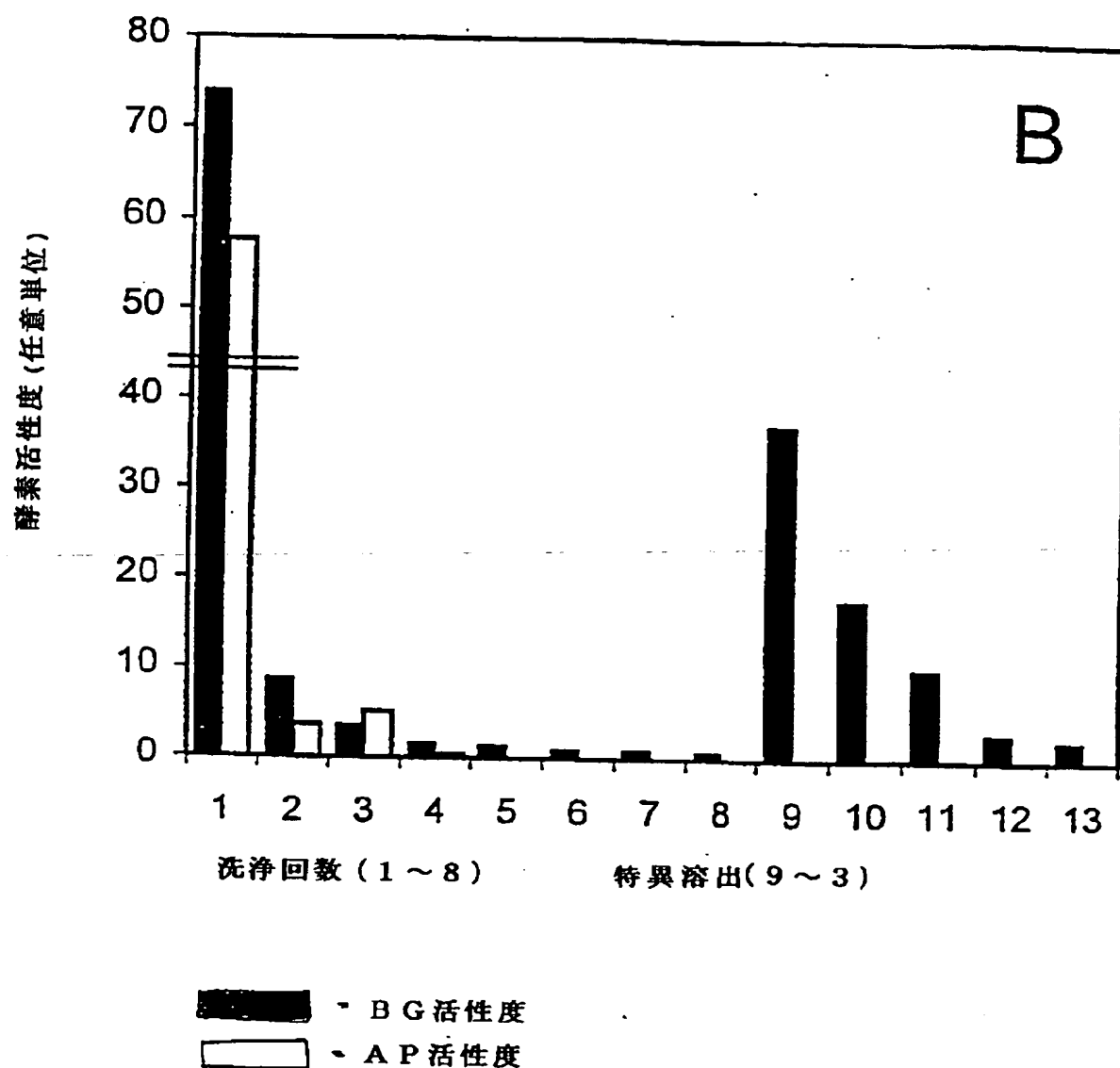


Fig. 10

[Translation done.]

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.